

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



“Evaluación del efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) en edema plantar inducido en animales de experimentación”

Diciembre 2012

**Trabajo de tesis presentado por los
bachilleres:**

Moreyra Ramos, Pierre Percy

Quiroz Huaranca, Maghaly Patricia

**Para optar el Título Profesional de
Químico Farmacéutico**

Asesor:

Q.F. Fernando Antero Torres Vela

AREQUIPA – PERÚ

2013

AGRADECIMIENTOS

*Dr. Fernando Torres Vela, un gran
amigo, gran persona y gran asesor.
Muchas gracias por todo su apoyo en
nuestra formación profesional.*

*Doctores del Programa Profesional de
Farmacia y Bioquímica
Por sus enseñanzas y consejos que nos
sirvieron en toda nuestra formación
profesional.*

*Dr. Alberto Briceño Ortega; Mgter.
Angélica Corzo Salas y Mgter. Roxana
Gutierrez Aranibar
Nuestro especial agradecimiento por sus
consejos que nos sirvieron para culminar
este trabajo.*

*Al Sr. K. Tamashiro mi eterno
agradecimiento por su apoyo
incondicional.*

Maghaly y Pierre

DEDICATORIA

A Dios, al Divino Niño por estar siempre presente en todos los momentos, en mis decisiones y en los retos de mi vida

A mi madre Fany por su amor, cariño, comprensión, paciencia y sus valiosos consejos que me dio a lo largo de mi vida.

A mi padre Abraham por su amor, esfuerzo, cariño y comprensión, quien desde el cielo ilumina mi camino.

A mi hermano Briham por su apoyo y cariño incondicional.

A mi esposo Ruddy y Luanita que sin tenerla entre mis brazos, me da fuerzas para salir adelante.

A mi tío German por sus grandes consejos y el cariño brindado.

Maghaly

*A Dios, al Sr. de los Milagros por
estar siempre a mi lado guiándome
y dándome la fe necesaria para
seguir luchando y así cumplir mis
sueños y metas.*

*A mis padres Percy y Mercedes
por brindarme su apoyo y
comprensión, por todo el
esfuerzo que hicieron para la
culminación de mi carrera.*

*A mis Hermanos Peter, Patrick y
Paul por su apoyo y paciencia con
todo mi cariño.*

*Y a toda mi familia que siempre
estuvo cuando más los necesite,
muchas gracias.*

Pierre

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
OBJETIVOS	7
HIPÓTESIS	8
CAPÍTULO I	9
MARCO TEÓRICO	9
1.1. ORTIGA COLORADA (<i>CAJOPHORA ROSULATA</i>)	10
1.1.1. UBICACIÓN TAXONÓMICA	10
1.1.2. NOMBRE CIENTÍFICO	10
1.1.3. NOMBRES COMUNES	10
1.1.4. ECOLOGÍA	11
1.1.5. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	11
1.1.6. HÁBITAT	11
1.1.7. PARTE EMPLEADA	11
1.1.8. FITOQUÍMICA	11
1.1.9. PROPIEDADES MEDICINALES ATRIBUIDAS	12
1.1.10. CULTIVO	12
1.2. INFLAMACIÓN	12
1.2.1. CONCEPTO	12
1.2.2. CAUSAS	12
1.2.3. CARACTERÍSTICAS DEL PROCESO INFLAMATORIO	13
1.2.3.1 RESPUESTA VASCULAR	13
1.2.3.2 RESPUESTA LEUCOCITARIA INICIAL	14

1.2.3.3	RESPUESTA LEUCOCITARIA TARDÍA	15
1.2.4.	MEDIADORES QUÍMICOS	15
1.2.4.1	AMINAS VASOACTIVAS	16
1.2.4.2	METABOLITOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO	16
1.2.4.3	MOLÉCULAS DE ADHERENCIA	16
1.2.5.	CONTROL DE LA INFLAMACIÓN	17
1.2.6.	FACTORES INDIVIDUALES PARA MODIFICAR EL PROCESO INFLAMATORIO	17
1.2.7.	INFLAMACIÓN AGUDA	18
1.2.8.	FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS	19
1.3.	GELES	20
1.3.1.	TIPOS DE GELES	20
1.3.1.1	GELES HIDRÓFOBOS	20
1.3.1.2	GELES HIDRÓFILOS	20
1.3.2.	EXCIPIENTES DE HIDROGELES	20
1.3.2.1	SUSTANCIAS INORGÁNICAS	21
1.3.2.2	SUSTANCIAS ORGÁNICAS	21
1.3.3.	PREPARACIÓN DE HIDROGELES	24
CAPÍTULO II		25
MATERIALES Y MÉTODOS		25
2.1.	LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN	26
2.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL	26
2.3.	MATERIALES	26
2.3.1.	MATERIAL BIOLÓGICO	26
2.3.1.1	UNIDAD VEGETAL	26
2.3.1.2	UNIDAD ANIMAL	27
2.3.2.	MATERIAL DE LABORATORIO	27
2.3.2.1	INSTRUMENTAL DE LABORATORIO	27
2.3.3.	REACTIVOS	28
2.4.	MÉTODOS: DISEÑO EXPERIMENTAL	28
2.4.1.	TRATAMIENTO DE LA UNIDAD VEGETAL	29
2.4.1.1	SELECCIÓN	29

2.4.1.2	ESTABILIZACIÓN	30
2.4.1.3	DESECACIÓN	30
2.4.1.4	TRITURACIÓN	30
2.4.2.	TÉCNICA PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	30
2.4.2.1	MÉTODO	30
2.4.2.2	FUNDAMENTO	30
2.4.2.3	PROCEDIMIENTO	31
2.4.3.	MÉTODO DE ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR	32
2.4.3.1	MÉTODO	32
2.4.3.2	FUNDAMENTO	32
2.4.3.3	PROCEDIMIENTO	32
2.4.4.	TÉCNICA PARA LA ELABORACIÓN DEL HIGROGEL	33
2.4.4.1	OBJETIVO	33
2.4.4.2	RESPONSABILIDAD DE APLICACIÓN Y ALCANCE	33
2.4.4.3	DEFINICIONES	33
2.4.4.4	DESCRIPCIONES	33
2.4.4.4.1	FORMULA PATRÓN	33
2.4.4.4.2	ENTORNO	34
2.4.4.4.3	MÉTODO PATRÓN	34
2.4.4.4.4	ACONDICIONAMIENTO	35
2.4.5.	TÉCNICA PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA	35
2.4.5.1	MÉTODO	35
2.4.5.2	FUNDAMENTO	35
2.4.5.3	PROCEDIMIENTO	36
2.4.6.	TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS	37
2.4.6.1	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	37
2.4.6.1.1	MEDIDAS DE TENDENCIA CENTRAL	37
2.4.6.1.2	MEDIDAS DE DISPERSIÓN	37
2.4.6.2	ESTADÍSTICA INFERENCIAL	39
2.4.6.2.1	ANOVA	39
2.4.6.2.2	PRUEBA HSD DE TUKEY	39
2.4.6.3	ÁREA BAJO LA CURVA	39
2.4.6.3.1	MÉTODO DEL TRAPECIO	39

CAPÍTULO III	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
3.1. RECOLECCIÓN DE LA DROGA	41
3.2. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO	41
3.3. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA	42
3.4. PREPARACIÓN DEL GEL CON EXTRACTO DE ORTIGA COLORADA	48
3.4.1. FÓRMULA	48
3.4.2. ELABORACIÓN	48
3.5. EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO Y GEL DE <i>CAJOPHORA ROSULATA</i> (ORTIGA COLORADA)	50
DISCUSIÓN	66
CONCLUSIONES	68
SUGERENCIAS	70
BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXOS	75
ANEXO 1: MILILITROS DE INFLAMACIÓN EN PLETISMÓMETRO	76
ANEXO 2: FASES MÓVILES Y SOLVENTES UTILIZADOS	78
ANEXO 3: EXCIPIENTES DEL GEL CON EXTRACTO AL 30% DE ORTIGA COLORADA	83

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología Humana (H-201) y el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María, con el objetivo principal de evaluar el efecto antiinflamatorio de las partes aéreas de la ortiga colorada (*Cajophora rosulata*), a través de su extracto fluido y el gel elaborado con éste, a una concentración del 30% en animales de experimentación, mediante un modelo experimental de inducción de inflamación plantar mediante carragenina.

Para iniciar el trabajo de campo, en primer lugar se procedió a la recolección de la droga, que se llevó a cabo por los alrededores de la localidad de Chiguata en el departamento de Arequipa, luego se procedió a la selección del material colectado, posteriormente se estabilizó y desecó la droga mediante calor seco en estufa; el procedimiento siguiente fue la trituración. Con la droga triturada se procedió a obtener el extracto fluido mediante Soxhlet, el producto de la destilación fue concentrado hasta obtener un extracto (1:5).

El extracto etanólico fue sembrado en placas de sílica gel para realizar la cromatografía en capa fina a través de sistemas de disolventes y reactivos reveladores; los resultados de la cromatografía señalan la presencia de terpenos, saponinas, triterpenos, esteroides, taninos y alcaloides.

El mismo extracto fue el complejo activo para la formulación de un medicamento herbario, en forma de gel conteniendo el extracto a una concentración

del 30%, el gel obtenido fue de tipo hidrogel de buen aspecto y características organolépticas aceptables.

Tanto el gel y el extracto se sometieron a una evaluación del probable efecto antiinflamatorio de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) en animales de experimentación. La inflamación se indujo mediante la administración de carragenina en la zona plantar del animal; se tuvo como control positivo al gel de diclofenaco al 1%. El volumen de la inflamación se midió en mililitros a través de pletismómetro digital. Este valor fue fundamental para hallar el volumen de inflamación y el área bajo la curva a distintos tiempos de medición. Luego de aplicar los estadígrafos (análisis de varianza y prueba de Tukey) se concluyó que solo el gel con extracto de ortiga colorada al 30% tiene una eficacia antiinflamatoria estadísticamente similar al gel de diclofenaco al 1%; por su parte el grupo tratado con el extracto puro, aplicado directamente sobre el edema plantar inducido en pata de rata tiene una eficacia que en términos de volumen de inflamación (porcentaje de inflamación) ocupa un modesto lugar intermedio entre los grupos tratados con gel de ortiga colorada y grupo control, y estadísticamente diferente (y con un valor inferior) al grupo tratado con diclofenaco al 1%.

ABSTRACT

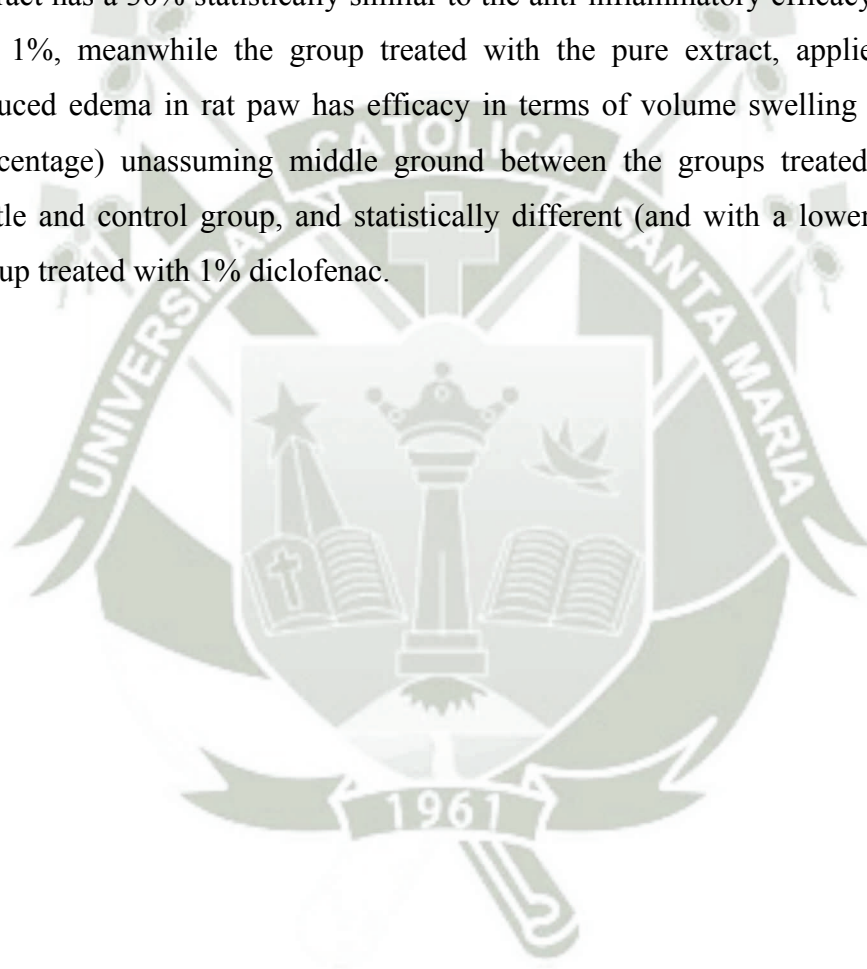
The present research was conducted in the Human Physiology Laboratory (H-201) and the Vivarium of the Catholic University of Santa Maria, with the main objective of evaluating the anti-inflammatory effect of the aerial parts of nettle red (*Cajophora rosulata*) through the fluid extract and the gel made from it, in a proportion of 30% in experimental animals using an experimental model of inflammation induced by carrageenan plant.

To start fieldwork, first proceeded to collect the drug, which was conducted in the vicinity of the town of Chiguata in the department of Arequipa, then proceeded to the selection of the material collected, then drug stabilized and dried in an oven by dry heat, the following procedure was crushing. Crushed drug proceeded to obtain the fluid Soxhlet extract, the product was concentrated by distillation to obtain an extract (1:1).

The aqueous extract was sown on silica gel plates for thin layer chromatography through of solvents and reagents systems revelators chromatography results indicate the presence of terpenes, saponins, triterpenes, steroids, tannins and alkaloids.

The extract was the same active complex for the formulation of a herbal medicine in the form of gel containing the extract at a concentration of 30%, the gel-like hydrogel obtained was of good appearance and acceptable organoleptic properties.

Both the gel and the extract was subjected to an assessment of the likely anti-inflammatory effect of the aerial parts of *Cajophora rosulata* (red nettle) in experimental animals. The inflammation was induced by administration of carrageenan into the plantar region of the animal was taken as a positive control to diclofenac gel at 1%. The swelling volume was measured in milliliters through digital plethysmometer. This value was crucial for the volume of inflammation and area under the curve at various measurement times. After applying the statistics (analysis of variance and Tukey test) concluded that only the gel with red nettle extract has a 30% statistically similar to the anti-inflammatory efficacy of diclofenac gel 1%, meanwhile the group treated with the pure extract, applied directly on induced edema in rat paw has efficacy in terms of volume swelling (inflammation percentage) unassuming middle ground between the groups treated with gel red nettle and control group, and statistically different (and with a lower value) to the group treated with 1% diclofenac.



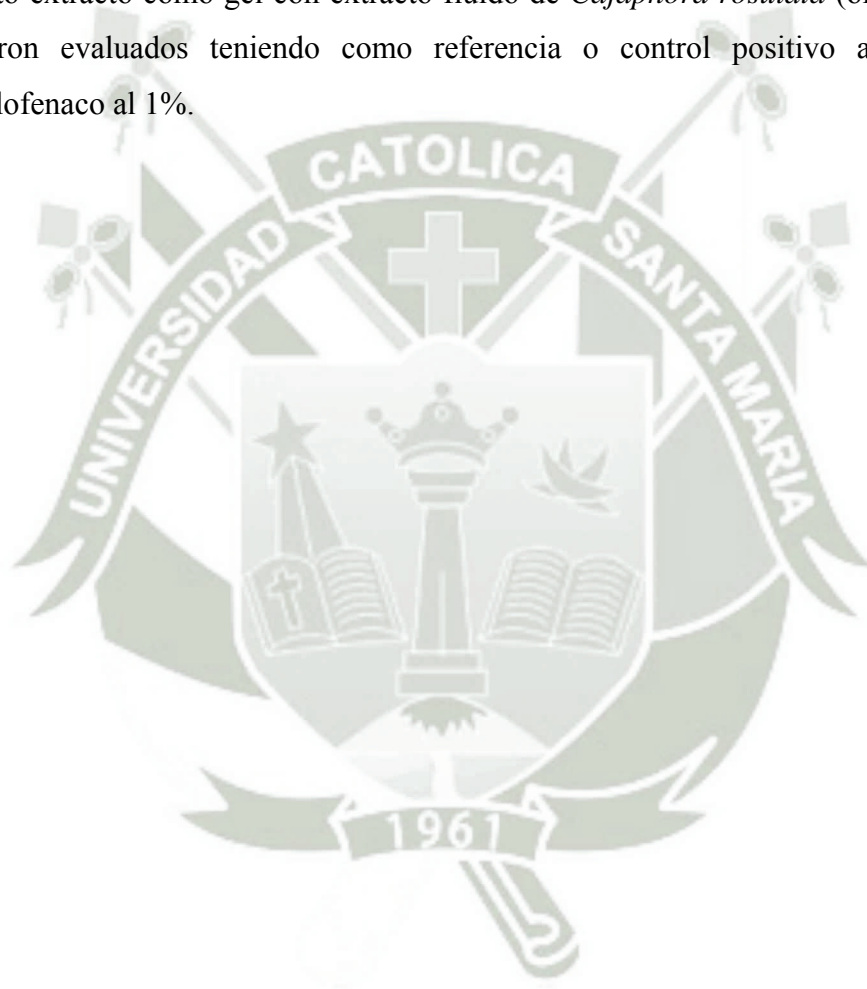
INTRODUCCIÓN

El clásico texto de Farmacia de Remington define al profesional Químico Farmacéutico como “Perito de fármacos”, se entiende de esta definición que el farmacéutico es el entendido de medicamentos, es decir, es el profesional que posee conocimientos relacionados a las sustancias medicinales utilizadas en terapéutica humana, además, el término medicamentos no se restringe a las sustancias alopáticas que utiliza la medicina convencional, sino también – y sobre todo – las de origen natural. En efecto, el Químico Farmacéutico es el único profesional competente e idóneo llamado a estudiar las especies vegetales que tienen usos medicinales, él es el que aplica los conocimientos adquiridos para validar el saber popular, utilizando el método científico, desde la adquisición del conocimiento que sobre la planta se dice, hasta su evaluación clínica.

Entre las plantas medicinales que existen en nuestro medio y que la gente utiliza con fines medicinales se encuentra la *Cajophora rosulata* o comúnmente denominada “ortiga colorada” que es una especie distinta a la ortiga común o *Urtica dioica* L., pero que al igual que esta última la gente atribuye propiedades antiinflamatorias, sin embargo, a propósito de la ortiga colorada u *Cajophora rosulata* no se disponen de trabajos de investigación que refrenden este uso, de allí que los autores de la presente investigación como futuros profesionales Químicos Farmacéuticos encontraron la motivación a través de este problema para no solo demostrar todos sus saberes y competencias adquiridas durante su formación, para evaluar científicamente a esta especie vegetal medicinal, sino además contribuir de

forma inicial con el conocimiento sobre la *Cajophora rosulata*, a fin de incrementar la información acerca de esta planta medicinal.

En el presente estudio que tenemos a bien introducir al lector, se indagó sobre la actividad antiinflamatoria de la *Cajophora rosulata* en animales de experimentación, utilizando un modelo experimental que utiliza carragenina como inductor del proceso inflamatorio, para ello previamente se obtuvo un extracto fluido (1:5) el mismo que se utilizó para realizar la marcha fitoquímica preliminar mediante el método de cromatografía en capa fina y para obtener un gel con 30% de extracto, tanto extracto como gel con extracto fluido de *Cajaphora rosulata* (ortiga colorada) fueron evaluados teniendo como referencia o control positivo a un gel con diclofenaco al 1%.



OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) en edema plantar inducido en animales de experimentación.

Objetivos específicos

- Realizar la marcha fitoquímica preliminar mediante CCF del extracto de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada).
- Formular un gel con el extracto de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada).
- Medir la actividad antiinflamatoria del extracto y gel de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) mediante pletismómetro.
- Comparar la eficacia antiinflamatoria del extracto y gel de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) con una especialidad farmacéutica tópica en forma de gel que contenga un p.a. antiinflamatorio.

HIPÓTESIS

Dado que el saber popular atribuye efectos antiinflamatorios a la aplicación tópica de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada), es probable que el extracto y gel obtenidos a partir de estas, muestren eficacia antiinflamatoria tópica en el modelo de edema plantar inducido en animales de experimentación.



1.1. ORTIGA COLORADA (*CAJOPHORA ROSULATA*)

1.1.1. UBICACIÓN TAXONÓMICA

Tipo: Fanerógama

Clase: Dicotiledónea

Orden: Tubiflorales

Familia: Loasaceae

Género: *Cajophora*

Especie: *Cajophora rosulata*

Nombres comunes: “Ortiga colorada” ⁽²⁷⁾

1.1.2. NOMBRE CIENTÍFICO

Cajophora rosulata (Weddell) Urban & Gilg. ⁽³⁴⁾

1.1.3. NOMBRES COMUNES

Ortiga colorada, ckora-quisa, llungo-llungo, puca shinua. puca hitana, unluy shinua. ⁽⁶⁾



FIGURA N°1: *Cajophora rosulata* (ortiga colorada)

1.1.4.ECOLOGÍA

Florece en cualquier época del año, en laderas de cerros, bordes de caminos, protegida por otros arbustos. En la actualidad no se practica su cultivo, y se desarrolla de manera espontánea. ⁽³⁴⁾

1.1.5.DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Hierba perenne, prostrada o creciendo a modo de enredadera, tallo de 30-60 cm; raíz típica. Hojas pinnatipartidas, pecioladas, margen lacerado y filamentosos, superficie ampollosa, cubierta de pelos rígidos urticantes. Flores axilares, hermafroditas, de color anaranjado fuerte; cáliz gamosépalo, pentadentado; corola con 5 pétalos libres, cóncavos, nectarios de color blanco, petaloides. Androceo con estambres largos y numerosos, anteras ditésicas y basifijas; gineceo con ovario ínfero, pentacarpelar, unilocular y multiovular, de estilo apical y estigma simple. Fruto, una cápsula con dehiscencia longitudinal ⁽³⁴⁾

1.1.6.HÁBITAT

La encontramos bajo las piedras o plantas siempre en lugares protegidos, entre los 3500 y 4000 m de altitud. Se encuentra en las zonas altas de Arequipa como en Chivay y Chiguata. ⁽³⁴⁾

1.1.7.PARTE EMPLEADA

Hojas y flores. ⁽³⁴⁾

1.1.8.FITOQUÍMICA

Existen referencias que la raíz es rica en taninos. ⁽³⁴⁾

Su fitoquímica completa es desconocida, por el contrario para la *Urtica dioica* especie relacionada a la ortiga colorada los datos fitoquímicos son abundantes. Estos no son recogidos en esta investigación porque pese a estar relacionadas ambas, son especies diferentes.

1.1.9. PROPIEDADES MEDICINALES ATRIBUIDAS

Se le atribuyen propiedades antirreumáticas a la aplicación local de las flores secas bien molidas mezcladas con un poco de grasa.

Como anticonceptiva: mediante lavados vaginales con el agua de la planta. ⁽³⁴⁾

Como emenagoga y antiinflamatoria: se prepara la infusión de sus raíces secas bien molidas junto con poco de azúcar y una clara de huevo y se aplica sobre el vientre “matriz”.

1.1.10. CULTIVO

No se practica su cultivo. ⁽³⁴⁾

1.2. INFLAMACIÓN

1.2.1. CONCEPTO

La inflamación es una reacción compleja, que involucra numerosos sistemas biológicos. Esta parte estará centrada en la descripción de varios principios generales, que permiten establecer una definición de inflamación aplicable a la mayoría de los casos. Así, la inflamación puede definirse como una reacción del tejido conjuntivo vascular, generada por todos los agentes etiológicos conocidos, estereotipada desde el punto de vista morfológico, mediada principalmente por agentes químicos, que cursa clínicamente con manifestaciones locales y un mayor o menor número de manifestaciones sistémicas, en cuya génesis intervienen sistemas amplificadores y redundantes, sometida a su vez a un importante control tanto local como general y modificada por factores individuales. ⁽¹⁰⁾

1.2.2. CAUSAS

La inflamación puede producirse en respuesta a todos los agentes etiológicos conocidos. Los agentes desencadenantes clásicos de respuestas inflamatorias son los exógenos (microorganismos, estímulos físicos o sustancias

químicas) y las reacciones inmunológicas alteradas (reacciones de hipersensibilidad y autoinmunidad); otros mecanismos de lesión como la isquemia (p. ej., reacción inflamatoria tras un infarto visceral) o la neoplasia (p. ej., componente linfocitario en neoplasias de mama o nasofaringe) también pueden generar respuestas inflamatorias (13).

1.2.3. CARACTERÍSTICAS DEL PROCESO INFLAMATORIO

La inflamación es una reacción estereotipada desde el punto de vista morfológico. Aunque algunas reacciones inflamatorias crónicas pueden cursar inicialmente con una infiltración por células mononucleares, por lo común la respuesta inflamatoria se desarrolla en tres fases consecutivas. (10)

1.2.3.1 RESPUESTA VASCULAR

En los momentos inmediatos a la acción de un agente lesional, e independientemente de su naturaleza, se produce una respuesta vasoconstrictora de breve duración. A continuación sobreviene una dilatación arteriolar, con apertura de los esfínteres precapilares, lo que origina dos fenómenos simultáneos: un incremento de flujo en los capilares previamente funcionales y la apertura de lechos capilares que se encontraban cerrados antes del inicio del proceso inflamatorio. (10)

El efecto común de ambos fenómenos es el desarrollo progresivo de hiperemia, a la que se asocia un aumento de la permeabilidad de los capilares y de las vénulas. Como consecuencia del escape de líquido rico en proteínas aumenta la viscosidad de la sangre, lo que ocasiona un retraso de su flujo.

La suma de los fenómenos mencionados —incremento del aporte sanguíneo y disminución de la evacuación— produce un aumento de la presión hidrostática, lo que también contribuye a la exudación de líquido al espacio extravascular.

Por lo tanto se desarrollan tres fenómenos:

- Hiperemia.

- Exudación proteica (como consecuencia de la alteración de la permeabilidad y el aumento de la presión hidrostática).
- Alteración de la relación espacial de las células sanguíneas ya que, al enlentecerse el flujo sanguíneo, los eritrocitos adoptan una posición central en el vaso, mientras que los leucocitos se disponen en la periferia.

1.2.3.2 RESPUESTA LEUCOCITARIA INICIAL

Los leucocitos (principalmente los PMN neutrófilos y los monocitos), confinados a la periferia del vaso por los fenómenos vasculares, se adhieren rápidamente a las superficies endoteliales. En una segunda fase (migración), estas células atraviesan las uniones intercelulares endoteliales, sobrepasando la membrana basal por un proceso activo. Una vez en el tejido, los leucocitos PMN y los macrófagos se dirigen hacia el lugar donde se ha producido la lesión, a favor de un gradiente de concentración de sustancias con capacidad para inducir la migración (atractantes). Este proceso se denomina *quimiotaxis* y su base es la interacción de atractantes específicos con receptores celulares. Una vez en el foco inflamatorio, estas células se adhieren a los agentes patógenos y reconocen tanto a algunos elementos de éstos (p. ej., monosacáridos manosa de la pared bacteriana) como a determinadas proteínas del individuo lesionado (receptor Fc de las inmunoglobulinas, fracciones del sistema de complemento) que actúan como «detectores» de la inflamación, haciendo más apto al agente causal para ser reconocido. Este último proceso se denomina *opsonización* y, en general, requiere un contacto previo del agente inflamatorio con el individuo, ya que precisa una reacción inmunológica frente al agente que genere moléculas detectoras. Además de estos mecanismos «específicos» o del receptor, los leucocitos pueden ingerir los agentes causales de forma inespecífica. Esta fase, es decir la ingestión de los agentes causales en el foco inflamatorio, se denomina *fagocitosis*. Una vez fagocitado el agente lesivo por los leucocitos, se producen el vertido de enzimas lisosómicas —sistema independiente del oxígeno— y la activación del complejo enzimático generador de radicales de oxígeno —sistema dependiente del oxígeno— en el seno de la vacuola

de fagocitosis, lo que produce, en la mayoría de los casos, la destrucción del agente causal de la inflamación. ⁽¹³⁾

1.2.3.3 RESPUESTA LEUCOCITARIA TARDÍA

Los leucocitos PMN neutrófilos sucumben en el foco inflamatorio, liberando sus componentes al medio extracelular. Muchos de estos productos poseen capacidad para lesionar el propio organismo, circunstancia que amplifica la respuesta inflamatoria. En términos mercantiles sería el precio que se ha de pagar para destruir al agente causal. Los macrófagos, sin embargo, no son destruidos y amplifican el proceso inflamatorio gracias a su participación en la respuesta inmunológica. Así, tras la fragmentación del agente causal («antígeno»), generan epítomos que, una vez situados fuera de la membrana, se ponen en contacto con los antígenos de histocompatibilidad de clase II. En términos inmunológicos, a estos procesos se los denomina procesamiento y presentación antigénica. El reconocimiento por los receptores para el antígeno de las células T de estos epítomos, unido a la producción de citocinas por los macrófagos, pone en marcha la respuesta inmunológica, una de cuyas finalidades es la producción de inmunoglobulinas específicas y células activadas que, por sí mismas o por favorecer la acción de los macrófagos (opsonización), ocasionan la destrucción total del agente causal. Estos fenómenos producen, en el supuesto más favorable, la eliminación del agente productor de la inflamación ⁽¹³⁾

1.2.4.MEDIADORES QUÍMICOS

Pueden estar presentes en el plasma y deben ser activadas para ejercer su función. También puede estar en las células donde permanecen almacenadas siendo secretadas o sintetizadas de nuevo en respuesta a un estímulo. Estas células son principalmente las plaquetas, los polimorfonucleares, monocitos, macrófagos y mastocitos. ⁽¹⁰⁾

Estas sustancias pueden tener efectos autocrinos, paracrinos o endocrinos.

Una vez liberados y activados tienen muy poca vida media debido a su efecto tóxico, la mayoría tienen efectos secundarios perjudiciales como son la destrucción de tejidos, convirtiéndose así la inflamación en una autoagresión.

1.2.4.1 AMINAS VASOACTIVAS

- **Histamina:** se encuentra en células cebadas, basófilos y plaquetas almacenada en gránulos que secretan ante agentes inflamatorios, moléculas del complemento (C3a, C5a), proteínas lisosomales, IL1, IL8. La histamina es el gran mediador de la fase aguda, sus efectos son:
 - Vasodilatación de arteriolas y vénulas.
 - Alteración de la permeabilidad en las vénulas. ⁽¹⁰⁾
- **Serotonina:** almacenada en células enterocromoafines, plaquetas y células del sistema nervioso. Su liberación se produce gracias al factor activador de plaquetas (PAF). Sus acciones son muy semejantes a las de la histamina. ⁽¹⁰⁾

1.2.4.2 METABOLITOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

- **Prostaglandinas:** PGE2, PGI2, PGD2 que producen vasodilatación, fiebre y dolor.
- **Tromboxanos A2 (TXA2):** producen agregación plaquetaria y vasoconstricción.
- **Leucotrienos LTC4, LTD2 y LTE4:** producen vasoconstricción, aumento de la permeabilidad y broncoespasmos. ⁽¹⁰⁾
- **Leucotrieno B4:** que promueve adherencia leucocitaria y quimiotaxis.

1.2.4.3 MOLÉCULAS DE ADHERENCIA

- Selectinas.
- Inmunoglobulinas.

- Integrinas.

Los mediadores inflamatorios activan a las selectinas, que se encuentran almacenados en gránulos de Weibel-Palade de las células endoteliales y se redistribuye rápidamente hacia la superficie celular. La adhesión firme de los leucocitos al endotelio se produce gracias al cambio conformacional de las integrinas. La transmigración y la salida de leucocitos están mediadas por la PCAM-1.⁽¹⁰⁾

1.2.5.CONTROL DE LA INFLAMACIÓN

La respuesta inflamatoria está, por lo general, sometida a un importante control tanto en lo que respecta a sus fenómenos locales como generales. Aunque estos sistemas de control son múltiples, sólo se mencionarán algunos a modo de ejemplo. Localmente, muchos quimioattractantes para neutrófilos, también reclutan eosinófilos hacia el foco inflamatorio. La desgranulación de estas células produce la liberación de sustancias (histaminasa, arilsulfatasa, etc.) que destruyen varios mediadores químicos de la inflamación. Un ejemplo del control local y general lo constituye la elevación térmica provocada por las interleucinas que incrementa de forma inespecífica la activación de los linfocitos B y T.

Además el control general es ejemplificado por las interleucinas inflamatorias que ejercen circuitos de control negativo. Así, por ejemplo, provocan la liberación de ACTH y ésta, a través de la liberación de cortisol, ejerce una acción antiinflamatoria o bien liberan reactantes de fase aguda que, como se mencionó antes, ejercen acciones antiinflamatorias.

1.2.6.FACTORES INDIVIDUALES PARA MODIFICAR EL PROCESO INFLAMATORIO

La respuesta inflamatoria sufre modificaciones en sentido positivo o negativo por factores del individuo. Entre los factores generales destacan la nutrición, las alteraciones hematológicas y las alteraciones hormonales. La nutrición, en especial el aporte proteico, vitamínico y de oligoelementos (cinc) tiene especial importancia sobre todo en la reparación de las lesiones. Las alteraciones de las

células sanguíneas (en particular, los leucocitos), impiden el desarrollo normal del proceso inflamatorio y, por lo tanto, predisponen al individuo a infecciones sistémicas. La diabetes mellitus interfiere claramente en el proceso inflamatorio por varias razones: altera los mecanismos quimiotácticos, los fagocitóticos y los bactericidas de los neutrófilos y de los macrófagos, incrementa la supervivencia - debido al aumento de glucosa - de algunos agentes inflamatorios (sobre todo bacterias) y favorece las lesiones vasculares (microangiopatía y macroangiopatía) que alteran el aporte sanguíneo al área lesionada. Otras alteraciones hormonales de especial importancia son las que afectan a las hormonas glucocorticoides que, como se ha mencionado, poseen una clara acción antiinflamatoria. ⁽¹³⁾

Entre los factores locales tienen especial trascendencia el aporte sanguíneo local, la presencia de cuerpos extraños y la inmovilización de la región afectada. El adecuado aporte de sangre a una región es esencial para el desarrollo de la respuesta inflamatoria. Así, lesiones arteriales importantes, al impedir una reacción inflamatoria adecuada, favorecen la diseminación del agente causal provocando, por lo tanto, consecuencias clínicas muy graves. La presencia de cuerpos extraños impide la correcta reparación de la lesión hasta que el organismo consiga su eliminación. Los dos mecanismos habituales por los que el organismo intenta resolver este problema son la digestión enzimática y el secuestro en el interior de las células multinucleadas. Finalmente, la inmovilización de la zona lesionada posee especial importancia en la reparación de las fracturas, al evitar desplazamientos del tejido conjuntivo. ⁽¹³⁾

1.2.7. INFLAMACIÓN AGUDA

La inflamación aguda, comprende una reacción inmediata y temprana, de un tejido vivo, a un agente lesivo; es básicamente, una reacción de defensa del huésped. Considerando que los componentes principales de defensa del organismo (anticuerpos y leucocitos) son transportados por la circulación sanguínea, no es sorprendente que los fenómenos vasculares sean componentes centrales de la inflamación.

Los diferentes fenómenos del proceso inflamatorio son mediados por la producción y liberación de diferentes sustancias químicas conocidas como

mediadores químicos de la inflamación, liberadas por la participación de diversos y variados factores lesivos. La contribución de estos variados mediadores – vistos anteriormente – químicos, a la respuesta inflamatoria aguda, es oscura, debido, principalmente, a la incapacidad para aislar la actividad de un agente de los de otros o para separar las acciones complejas entre todos los agentes, por lo que a la mezcla exudativa que contiene gran cantidad de mediadores químicos se la conoce como la “sopa farmacológica”.⁽¹³⁾

En los últimos años han surgido evidencias de que las prostaglandinas y los leucotrienos puede desempeñar papeles centrales en la respuesta inflamatoria aguda: así las PGE₁, PGE₂ y PGI₂, son capaces de inducir e incrementar los cuatro signos clásicos de la inflamación aguda (ru-ca-ba-do). Se acepta que la histamina y la serotonina median la etapa inicial de la inflamación (1-1,5 horas) y las cininas la segunda etapa (1,5-2 horas), en tanto que las prostaglandinas, ejercen sus efectos inflamatorios en la última etapa del proceso (2,5-6 horas). El aumento de la permeabilidad capilar y la exudación plasmática, provocadas por la bradicinina y la histamina son potenciadas por la PGE₂, probablemente por la acción vasodilatadora de esta.⁽¹³⁾

1.2.8.FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

Los fármacos con actividad antiinflamatoria están constituidos por dos grandes grupos:

- Antiinflamatorios no esteroides (AINES): cuyo mecanismo de acción está ligado a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, específicamente por la inactivación de la ciclooxigenasa, a su vez se clasifican por la diferente afinidad hacia las isoformas de la COX.
- Antiinflamatorios esteroides (AIES): el efecto antiinflamatorio de estos fármacos más bien está íntimamente vinculado a la acción inmunosupresora.⁽⁴⁾

1.3. GELES

Los geles son sistemas de dispersión, semisólidos, habitualmente transparentes, uniformes, fácilmente deformados, que constan como mínimo de dos componentes. La fase dispersante que es un líquido, y la fase dispersa o gelificante, que habitualmente es un polímero generador de estructura. Esta fase dispersa suele formar con la dispersante al inicio una solución coloidal. ⁽³⁸⁾

1.3.1. TIPOS DE GELES

La definición de la BP establece que los geles consisten en líquidos gelificados mediante agentes gelificantes adecuados, e indica que existen dos clases, a saber:

1.3.1.1 Geles Hidrófobos

Las bases de los geles hidrófobos (oleogeles) por lo general consisten en parafina líquida con polietileno o aceites grasos gelificados con sílica coloidal o jabones de aluminio o cinc. ⁽³⁸⁾

1.3.1.2 Geles Hidrófilos

Las bases de los geles hidrófilos (hidrogeles) por lo general consisten en agua, glicerol o propilenglicol gelificados con agentes gelificantes como tragacanto, almidón, derivados de la celulosa, polímeros de carboxivinilo y silicatos de magnesio y aluminio. ⁽³⁸⁾

1.3.2. EXCIPIENTES DE HIDROGELES

A continuación se muestran las principales sustancias utilizadas en la elaboración de geles de uso tópico, así como la concentración necesaria para su preparación.

1.3.2.1 Sustancias Inorgánicas

- *Dioxido de silicio*: Es más conocido por su denominación comercial, Aerosil®, y está constituido por partículas coloidales esféricas de SiO₂, prácticamente puro. Se obtiene por pirohidrólisis del SiCl₄. El diámetro medio de las partículas primarias es aproximadamente de 15nm. La sustancia es muy poco densa: un volumen de un litro solo pesa 40g. La presencia de electrolitos facilita la gelificación.
- *Bentonita*: Es un silicato alumínico hidratado estrechamente relacionado con el caolín. Consiste en un polvo muy fino cuyas partículas poseen la forma de laminillas. Es insoluble en agua pero la absorbe rápidamente con esponjamiento. Para acelerar el tiempo de esponjamiento se puede emplear agua muy caliente (80-90°C). Para la obtención de geles extensibles se requieren concentraciones de 15-20%. La presencia de electrolitos, al igual que el Aerosil®, facilita la gelificación.⁽³⁸⁾

CUADRO N° 1
EXCIPIENTES DE HIDROGELES

TIPO	GELIFICANTE	CONCENTRACIÓN
Sustancias inorgánicas	Bentonita	15-20%
	Dioxido de silicio	15-20%
Sustancias orgánicas	Éteres de celulosa	1-5%
	Ácido poliacrílico (Carbopol®)	1-5%
	Alcohol polivinílico (Polyviol®)	12-15%
	Polivinilpirrolidona (Kollidon®)	10-15%

Fuente: Vila Jato. 2002

1.3.2.2 Sustancias Orgánicas

Por lo que se refiere a los hidrogelificantes orgánicos, hasta hace poco tiempo se utilizaban casi exclusivamente carbohidratos de elevado peso molecular obtenidos a partir de productos vegetales, como la acacia, el tragacanto y el alginato sódico. Sin embargo, los mucílagos y geles obtenidos a partir de estos productos constituyen excelentes medios para el desarrollo microbiano, por lo que se requerían

conservantes. Además, estos productos contienen enzimas que pueden afectar al medicamento que se les incorpora. ⁽³⁸⁾

Estos y otros inconvenientes relacionados con diversos tipos de incompatibilidad han hecho que, progresivamente, estén siendo sustituidos por productos semisintéticos o sintéticos de composición más definida. Los más importantes son los de la celulosa y los derivados del ácido poliacrílico.

- *Celulosa y derivados.* La celulosa es insoluble en agua a pesar de que las cadenas moleculares filiformes están constituidas por unidades básicas, glucopiranosas, que contienen tres grupos –OH por unidad. Ello se atribuye a la formación de enlaces hidrogeno entre las cadenas de moléculas. Sin embargo, estos enlaces pueden romperse introduciendo sustituyentes (metilo, etilo, etc.) que conducen a la formación de éteres, y los productos así obtenidos son solubles en agua. El grado de sustitución (número de grupos –OH sustituidos por cada unidad de glucosa) es una característica crítica que, junto con el grado de polimerización (longitud o unidades de glucosa que contienen la molécula), determina las propiedades del producto obtenido.

La *metilcelulosa* corresponde al éter metílico que contienen entre 1,3 y 2 grupos metoxilo por unidad de glucosa.

La *etilhidroxietilcelulosa* contiene éteres con ambos grupos, etilo e hidroxietilo. ⁽³⁸⁾

La *carboximetilcelulosa sódica* es una metilcelulosa con un sustituyente carboxilo ($-\text{OCH}_2\text{COOH}$). El grado de sustitución oscila entre 0,5-0,9. Cada uno de los productos, así como otros similares que no se citan aquí por no extender en exceso este apartado, se suministran en diferentes tipos o variedades que corresponden a viscosidades diferentes. ⁽³⁸⁾

En resumen, si bien la celulosa (celulosa microcristalina, Avicel ®) es esponjable en agua hasta cierto límite, los productos eterificados muestran esponjabilidad ilimitada, o en otras palabras, en presencia de cantidades ilimitadas de agua se puede llegar al estado de “pseudosolución”. Para la fabricación de pomadas hidrogel, se requiere concentraciones del producto

que dependen de las características anteriormente citadas (grado de sustitución grado de polimerización).⁽³⁸⁾

Exceptuando la carboximetilcelulosa sódica, todos los éteres de celulosa son de carácter no ionógeno, lo que representa una ventaja por cuanto no dan origen a incompatibilidades con sustancias de carácter iónico. De hecho, el comportamiento tixotrópico de los geles de celulosa microcristalina-carboximetilcelulosa sódica sufre modificaciones importantes en presencia de electrolitos.⁽³⁸⁾

La preparación de los geles se realiza, en general, agitando el polvo en agua fría o templada y dejándolo reposar a continuación.

- *Ácido poliacrílico*. A partir del ácido se obtienen, por polimerización, productos de peso molecular variable. Las dispersiones acuosas de estos polímeros presentan un pH igual a 3 y una viscosidad prácticamente similar a la del agua. La neutralización de estas dispersiones con bases inorgánicas u orgánicas conduce a la obtención de geles que oscilan de 1 a 5%, la concentración necesaria para la obtención de la consistencia de pomada. El producto comercial de uso más extendido en nuestro país es el Carbopol®. Para valores de pH de 6 a 10, la viscosidad de los geles se mantienen prácticamente constante; valores superiores de pH (10-11) conducen a una rápida caída de la viscosidad.⁽³⁸⁾

Su carácter aniónico hace que sean muy sensibles a las sales, produciéndose, en presencia de cationes metálicos, una disminución de la consistencia. Desde un punto de vista fisiológico, estas bases son atóxicas y bien toleradas por la piel.

- *Alcohol polivinílico*. También conocido como Polivirol®, se presenta en diversos grados de polimerización. Para formación de geles sólo son adecuados los productos de peso molecular elevado (40.000), y son necesarias concentraciones del 12-15% para obtener geles extensibles. Fisiológicamente son bien tolerados, y son muy utilizados en preparados cosmetofarmacéuticos. Presentan incompatibilidades con ácidos, sales, taninos y ácido poliacrílico.⁽³⁸⁾

- *Polivinilpirrolidona*. Por polimerización de la N-vinilpirrolidona se obtienen productos cuyo peso molecular medio varía de 20.000 a 700.000. En general, y dependiendo del grado de polimerización, para obtener geles extensibles, se requieren concentraciones del 10 al 15%. Básicamente se utilizan como pomada protectoras. Hay que tener presente que con algunos medicamentos (cloranfenicol, sulfatizol, anestésicos locales tipo procaína) se producen complejos que pueden ser causa de la inactivación del preparado. ⁽³⁸⁾

1.3.3.PREPARACIÓN DE HIDROGELES

En la preparación de pomadas hidrogel intervienen agua, el agente gelificante seleccionado, a la concentración conveniente para obtener la consistencia adecuada; además, se requiere la adición de una sustancia higroscópica como la glicerina, el propilenglicol o el sorbitol, que impida la desecación rápida una vez que la preparación se aplica sobre la piel. Estas sustancias actúan, asimismo, mejorando la elasticidad y hacen más fácil la extensión del preparado sobre la superficie cutánea. Es conveniente, además, la adición de un agente antimicrobiano. ⁽³⁸⁾

Pueden prepararse por imbibición lenta del agente gelificante en el agua, en la que previamente se habrán disuelto la sustancia medicinal y los demás componentes. Si se desea, se puede acelerar el proceso de preparación mezclando los componentes mediante agitación fuerte. Este procedimiento favorece la incorporación de burbujas de aire que restan transparencia al gel; sin embargo, si la viscosidad no es demasiado elevada, el aire incorporado se podrá eliminar manteniendo el gel en reposo durante un tiempo más o menos prolongado. ⁽³⁸⁾



2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio fue realizado en el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María; la indagación cromatográfica y control de calidad del gel de ortiga colorada en el laboratorio de Fisiología Humana (H-201) de dicha universidad.

2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizaron 20 animales de experimentación, los que fueron divididos en cuatro grupos. Como se detalla a continuación:

Grupo	Nominación	N° animales	Tratamiento
GE ₁	Grupo experimental 1	5	Aplicación tópica del extracto de <i>Cajophora rosultata</i>
GE ₂	Grupo experimental 2	5	Aplicación tópica del gel con extracto de <i>Cajophora rosultata</i> al 30%.
GC	Grupo control	5	Pata inflamada sin ningún tratamiento.
GF	Grupo farmacológico	5	Aplicación tópica de diclofenaco en gel.

Fuente: Elaboración propia

2.3. MATERIALES

2.3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

2.3.1.1 Unidad vegetal

Se utilizaron las partes aéreas (hojas y flores) de ortiga colorada.

2.3.1.2 Unidad animal

La unidad animal estuvo conformada por un grupo de 20 animales de experimentación de la especie *Rattus rattus* hembras y machos, de 200-300 g de peso con una edad de 2 a 4 meses, aproximadamente.

2.3.2.MATERIAL DE LABORATORIO

2.3.2.1 Instrumental de laboratorio

- Algodón estéril
- Baguetas (LBT)
- Balanza analítica
- Desecador
- Embudos
- Espátulas
- Guantes quirúrgicos
- Jaulas metálicas para ratas
- Láminas de sílica gel
- Lámpara de luz ultravioleta
- Lápiz marcador
- Papel filtro
- Pletismómetro
- Potes
- Probeta graduada de: 50 y 100ml (LBT)
- Soxhlet
- Termómetros (LBT)
- Tubos de ensayo (PIREX)
- Vasos de precipitado: 50, 100, 250ml (LBT)

2.3.3. REACTIVOS

- Acetato de etilo
- Ácido acético
- Ácido fórmico
- Ácido sulfúrico
- Acritamer
- Agua destilada
- Cloruro de aluminio
- Cloruro férrico
- Metanol
- Metilparabeno
- Propilenglicol USP
- Propilparabeno
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Libermann Burchard
- Tolueno
- Trietanolamina USP
- Vainillina

2.4. MÉTODOS: DISEÑO EXPERIMENTAL

a) Tratamiento de la unidad vegetal

Este procedimiento consistió en la recolección, selección de la droga, estabilización, desecación y trituración.

b) Obtención del extracto

La obtención del extracto de *Cajophora rosulata* se realizó utilizando el método continuo con equipo Soxhlet.

c) Análisis fitoquímico preliminar

El análisis fitoquímico preliminar del extracto de *Cajophora rosulata* se realizó utilizando el método de la cromatografía en capa fina utilizando como soporte placas de sílica gel.

d) Elaboración del gel

El gel elaborado fue un hidrogel, y se realizó conforme el procedimiento normalizado para la elaboración de hidrogeles del Formulario Nacional Español.

e) Evaluación de la actividad antiinflamatoria

Se utilizó el método de edema plantar inducido por carragenina al 2% en 20 animales de experimentación, los que fueron distribuidos aleatoriamente.

2.4.1. TRATAMIENTO DE LA UNIDAD VEGETAL

La recolección se realizó en el sector de la Rinconada del Distrito de Chiguata, a tempranas horas del día, para la colecta se utilizaron guantes y tijera podadora.

2.4.1.1 SELECCIÓN

Se procedió a la selección del material colectado, prefiriéndose las especies que se encontraban en buen estado, siendo descartadas las que se encontraron marchitas, contaminadas con material extraño o que no correspondieran a la unidad vegetal.

2.4.1.2 ESTABILIZACIÓN

Para evitar la degradación de las sustancias activas de la ortiga colorada se estabilizó en seco, en una estufa previamente atemperada a 100°C, durante 3 minutos.

2.4.1.3 DESECACIÓN

La desecación de la unidad vegetal se realizó mediante calor artificial en estufa de desecación, con este propósito se utilizó un equipo eléctrico, previamente calentado a 50°C, en este ambiente permaneció durante 48 horas.

2.4.1.4 TRITURACIÓN

La trituration se realizó en un mortero, hasta la obtención de un polvo con un grado de trituration moderado, no llegando hasta el estado de polvo fino.

2.4.2. TÉCNICA PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

2.4.2.1 MÉTODO

Soxhlet (Continuo)

2.4.2.2 FUNDAMENTO

Es un sistema de extracción sólido-líquido en el que la extracción se realiza en un aparato que consta de un matraz de fondo plano (A), un cuerpo extractor (B) y un refrigerante (C). En el cuerpo extractor se coloca el disolvente orgánico y la droga, generalmente envuelta en un material poroso que permita el contacto con el disolvente. En el matraz de fondo plano se coloca el disolvente orgánico, se lleva a ebullición y los vapores del disolvente ascienden por el tubo lateral (D) y llegan al refrigerante donde condensan y caen sobre la droga situada en el cuerpo extractor. Cuando el cuerpo extractor se llena de líquido extractivo, éste se vacía por el sifón lateral interno (E) y desemboca en el matraz inferior (A). El

disolvente orgánico se va reciclando durante el proceso mientras que los principios activos se van concentrando en el matraz inferior.

2.4.2.3 PROCEDIMIENTO

- Se elaboró un papelote de papel de filtro rápido, conteniendo aproximadamente 10g *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) debidamente seca y triturada.
- En el matraz del equipo soxhlet se adiciono 150ml de etanol y se procedió a iniciar el proceso de extracción.
- Se concentró la solución extractiva mediante rotavapor a un volumen aproximado de 50ml.
- Culminada la concentración, se vertió la solución extractiva a un envase de vidrio de tapa hermética.

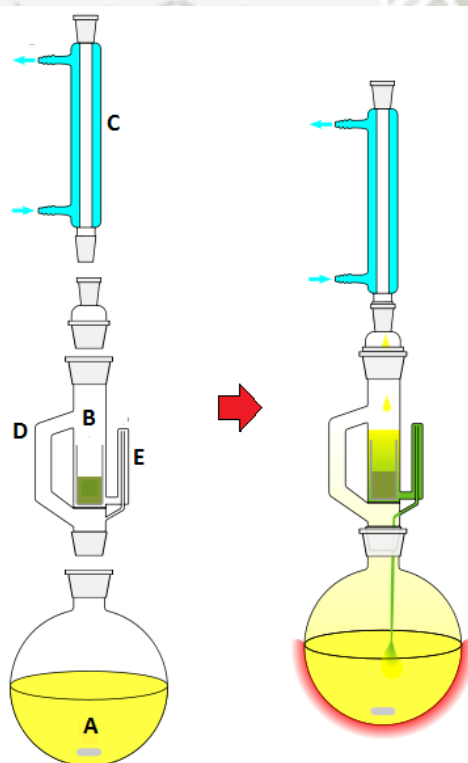


Figura N°2: Esquema de extracción en Soxhlet

2.4.3. MÉTODO DE ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

2.4.3.1 Método

Cromatografía en capa fina, o también llamada “Thin Layer Chromathography (TLC)”, es una de las técnicas más utilizadas para la separación y purificación de sustancias químicas.

2.4.3.2 Fundamento

Se basa en el principio general de remoción selectiva de los componentes de una mezcla por acción de la fase móvil que fluye a través de la fase estacionaria, distribuyéndose el compuesto entre las dos fases.

2.4.3.3 Procedimiento

El extracto de ortiga colorada fue sometido, con los sistemas de solventes y reactivos reveladores descritos en los anexos.

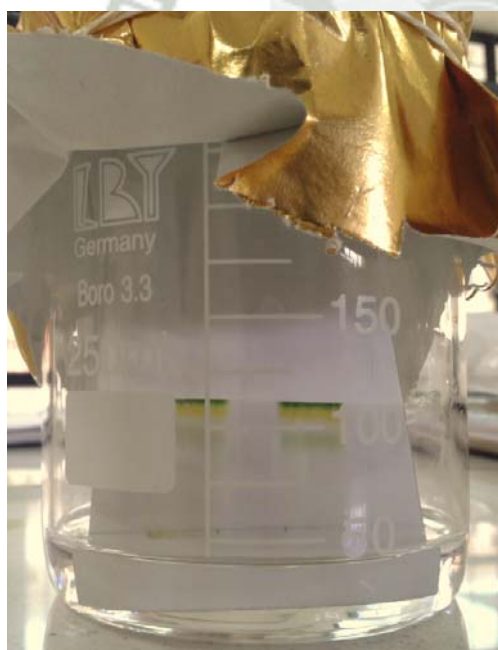


Figura N°3: Procedimiento de cromatografía en capa fina.

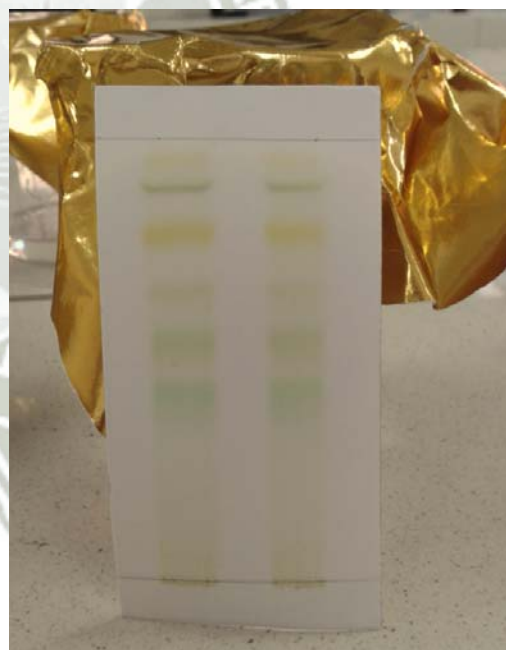


Figura N°4: Placa de sílica gel con analitos separados.

2.4.4. TÉCNICA PARA LA ELABORACIÓN DEL HIGROGEL

La ficha técnica de elaboración del hidrogel utilizada fue obtenida del Formulario Nacional Español en su tercera edición.

2.4.4.1 Objetivo

Definir el procedimiento para la elaboración de geles.

2.4.4.2 Responsabilidad de aplicación y alcance

La responsabilidad de aplicación y alcance de este procedimiento recae sobre todo el personal (técnico y/o auxiliar) que proceda a la elaboración de geles.

2.4.4.3 Definiciones

Gel: Preparación semisólida formada por líquidos gelificados con la ayuda de agentes gelificantes apropiados. Podemos diferenciar:

- Geles lipófilos: Los geles lipófilos (oleogeles) son preparaciones cuyas bases están constituidas habitualmente por parafina líquida con polietileno o por aceites grasos gelificados con sílice coloidal o por jabones de aluminio o zinc. ⁽¹⁾
- Geles hidrófilos: Los geles hidrófilos (hidrogeles) son preparaciones cuyas bases generalmente son agua, glicerol, propilenglicol gelificado con ayuda de agentes gelificantes apropiados tales como almidón, derivados de la celulosa, carbómeros y silicatos de magnesio y aluminio. ⁽¹⁾

2.4.4.4 Descripciones

2.4.4.4.1 Formula patrón

En general se ajusta a:

- Principio activo x%
- Excipientes:
- Gelificantes x%
- Humectante x%

- Regulador de pH (si procede) c.s
- Diluyente c.s.p.

En caso de utilizar geles semielaborados, seguir las instrucciones del fabricante.

2.4.4.4.2 Entorno

- Humedad relativa: $\leq 60\%$
- Temperatura: $25 \pm 5^\circ\text{C}$

Excepto los casos en que las especificaciones de la formulación requieran otras condiciones. ⁽¹⁾

2.4.4.4.3 Método patrón

- Se pesó todos los componentes.
- Se dispersó el gelificante en parte del diluyente por toda la superficie, evitando la formación de grumos.
- Se dejó reposar el tiempo suficiente hasta la total imbibición del diluyente.
- Se agitó evitando la incorporación de aire, hasta obtener un gel uniforme.
- Incorporación del principio activo:
 - Siempre que sea posible se incorporará disuelto en el diluyente antes de elaborar el gel.
 - Si no es así, una vez formada el gel, incorporar el resto de diluyente con los principios activos solubles.
 - Si son insolubles en el diluyente, disolverlos o dispersarlos en el mínimo volumen posible de un solvente con la polaridad adecuada.

- En caso de que sea necesario para la gelificación, agregar la sustancia reguladora del pH si procede, ajustando al pH deseado y controlándolo según procedimiento de medición de pH.
- La velocidad, tiempo de agitación, temperatura se especificaran en cada formulación en concreto.
- Proceder a la limpieza del material y equipo según se especifique en los procedimientos de limpieza correspondientes. ⁽¹⁾

2.4.4.4.4 Acondicionamiento

Se procedió al acondicionamiento del gel, según las especificaciones particulares de cada formulación.

El tipo de envase utilizado debe ser adecuado y compatible con el gel que contiene. ⁽¹⁾

2.4.5. TÉCNICA PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

2.4.5.1 Método

Método de edema plantar inducido por carragenina (creado por Winter *et al*, modificado por Sugishita).

2.4.5.2 Fundamento

Consiste en provocar un edema en la región subplantar de la pata del animal de experimentación, por inyección de una sustancia irritante como la carragenina. El proceso inflamatorio así provocado, está constituido por dos fases. La primera fase o fase inicial, que ocurre inmediatamente después de la administración hasta la primera hora, está relacionada a mediadores de la inflamación, como la serotonina e histamina. A la hora y media intervienen las quininas. La segunda fase o fase tardía, ocurre aproximadamente a la tercera hora luego de la administración de carragenina, y está relacionada con la síntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico, incluso se afirma que se induce y activa COX-2. La migración de

neutrófilos probablemente al lugar de la inflamación ocurra alrededor de las dos horas.

2.4.5.3 Procedimiento

- Se distribuyó las ratas según el grupo de tratamiento al azar y se las identificó según el grupo asignado.
- Se midió el volumen de la pata derecha posterior de las ratas de los grupos experimentales en pletismómetro digital.
- Se administró 0.1ml de una solución de carragenina al 2% en suero fisiológico; en la pata derecha posterior de cada rata.
- Se administró los tratamientos:
 - Grupos Experimental 1: se administró pinceladas de extracto de ortiga colorada en la superficie de la pata derecha posterior.
 - Grupo Experimental 2: se administró tópicamente el gel con extracto de ortiga colorada en la pata derecha posterior.
 - Grupo farmacológico: se administró tópicamente el gel de diclofenaco en la pata derecha posterior.
 - Grupo control: sin tratamiento.
- Se realizó lectura de la pata posterior derecha al cabo de 1, 3, 5 y 7 horas, inmediatamente después de cada lectura se aplicó un nuevo tratamiento.
- Se halló el porcentaje de inflamación de cada grupo, mediante la siguiente fórmula, considerando el volumen inicial medido.

$$\%inflamación = \frac{Volumen_{final} - Volumen_{inicial}}{Volumen_{final}} \times 100$$



Figura N°5: Administración de la solución de carragenina al 2%

2.4.6. TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

2.4.6.1 Estadística descriptiva

2.4.6.1.1 *Medidas de tendencia central*

Las medidas de tendencia central conllevan información respecto al valor promedio de un conjunto de valores.

2.4.6.1.1.1 *Media aritmética*

Es la medida de tendencia central más conocida. La media se obtiene sumando todos los valores en una población o muestra y dividiendo entre los valores sumados

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

2.4.6.1.2 *Medidas de dispersión*

La dispersión de un conjunto de observaciones se refiere a la variedad que muestran éstas. Una medida de dispersión conlleva información respecto de la cantidad total de variabilidad presente en el conjunto de datos. Si todos los valores son iguales no hay dispersión, pero si no todos son iguales, entonces existe

dispersión en los datos. La magnitud de la dispersión es pequeña cuando los valores, aunque diferentes, son cercanos entre sí.

2.4.6.1.2.1 La varianza

Cuando los valores de un conjunto de observaciones se encuentran ubicados cerca de su media, la dispersión es menor que cuando están esparcidos. En consecuencia, se puede pensar intuitivamente que es posible medir la dispersión en función del esparcimiento de los valores alrededor de su media. Esta medición se efectúa mediante lo que se conoce como *varianza*. Para calcular la varianza de una muestra de valores, se resta la media de cada uno de los valores individuales, las diferencias se elevan al cuadrado y después se suman entre sí. Esta suma de desviaciones elevadas al cuadrado de los valores con respecto a la media se divide entre el tamaño de la muestra, menos 1, para obtener la varianza de la muestra. Si se asigna la letra s^2 para simbolizar la varianza de la muestra, el procedimiento descrito se expresa como sigue:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

2.4.6.1.2.2 Desviación estándar

La varianza representa unidades al cuadrado, por lo que no es una medida adecuada de dispersión si se pretende expresar este concepto en términos de las unidades originales. Para obtener la medida de dispersión en unidades originales, simplemente se obtiene la raíz cuadrada de la varianza. ⁽¹¹⁾

$$s = \sqrt{s^2}$$

2.4.6.2 Estadística inferencial

2.4.6.2.1 ANOVA

El análisis de varianza es utilizado en el presente estudio para estimar y probar hipótesis respecto a las medias de las poblaciones, sin embargo, es necesario precisar que las conclusiones respecto a las medias dependen de la magnitud de las varianzas observadas.

2.4.6.2.2 Prueba HSD de Tukey

Es un procedimiento de comparación múltiple, desarrollado por Tukey se utiliza con frecuencia para probar hipótesis nula de que todos los pares de medias posibles de tratamientos son iguales si el tamaño de todas las muestras es igual. Si se utiliza esta prueba es necesario seleccionar un nivel de significación total de α . Si la probabilidad es α , entonces, una o más de las hipótesis nulas es falsa.

La prueba de Tukey, que generalmente se conoce como prueba de HSD (*diferencia verdaderamente significativa*), utiliza un solo valor que se compara contra el que se comparan todas las diferencias. Este valor es llamado HSD.

2.4.6.3 Área bajo la curva

2.4.6.3.1 Método del trapecio

Donde cada punto experimental forma un área de trapecio:

$$A = \left[\frac{(B + b)}{2} * h \right]$$

La suma de las áreas nos da el ABC_0^T



3.1. RECOLECCIÓN DE LA DROGA

Se efectuó en la periferia de la localidad de Chiguata, durante el mes de diciembre de 2012; la especie vegetal fue reconocida inmediata e inequívocamente debido a sus particulares características morfológicas y gracias a la ayuda de un texto con ilustraciones de la planta.



Figura N°6 y 7: Recolección de *Cajophora rosulata*

3.2. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO

Luego de triturar las partes aéreas de la *Cajophora rosulata* se procedió a la extracción con disolvente mediante el equipo soxhlet, utilizando como menstruo alcohol etílico. Para tal fin de la extracción se pesaron 10 g material vegetal.

El extracto obtenido presentó las siguientes características.

- Color: verde intenso.
- Aspecto: límpido+
- Olor: característico a la droga.

Este extracto fue concentrado aproximadamente hasta la tercera parte, constituyendo el producto el extracto fluido final y almacenado en un frasco de vidrio color ámbar con cerradura hermética; para la posterior marcha fitoquímica preliminar mediante cromatografía en capa fina, formulación del gel y evaluación antiinflamatoria.

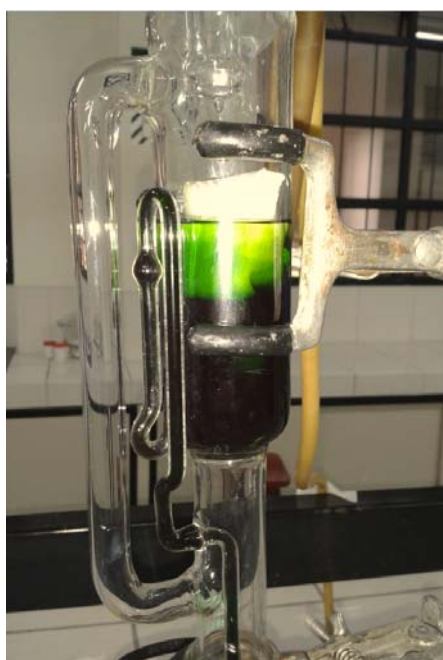


Figura N°8: Extracción mediante soxhlet

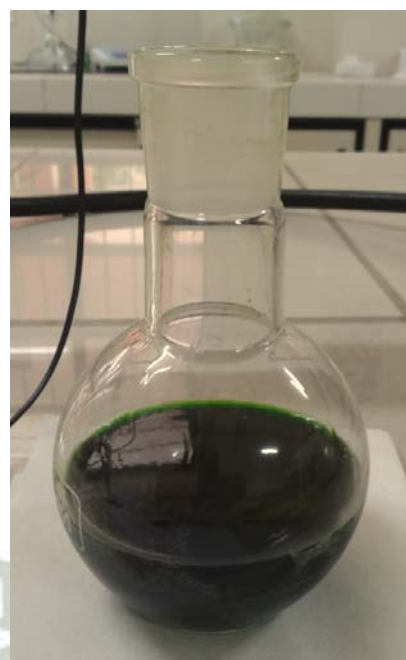


Figura N°9: Solución extractiva etanólica

CUADRO N° 2

CONCENTRACIÓN FINAL DEL EXTRACTO FLUIDO DE ORTIGA COLORADA

Peso de la Droga	Cantidad de Solución Extractiva	Cantidad de Extracto Concentrado
10g	143ml	50 ml
Producto:	Extracto fluido (1:5)	

Fuente: *Elaboración propia*

3.3. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Este método analítico fue utilizado para identificar las principales familias de metabolitos secundarios presentes en la droga, al no existir antecedentes previos se realizaron corridas del extracto sin la presencia de estándares, como primera aproximación a la fitoconstitución de la ortiga colorada.

Para la identificación general (ver anexos) se utilizó como fase móvil acetato de etilo: metanol: agua; 77:15:8, respectivamente, y como reveladores ácido sulfúrico 5% y vainillina 1%.



Figuras N°10 y 1: Análisis cromatográfico general del extracto fluido (1:5) de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada)

CUADRO N°3

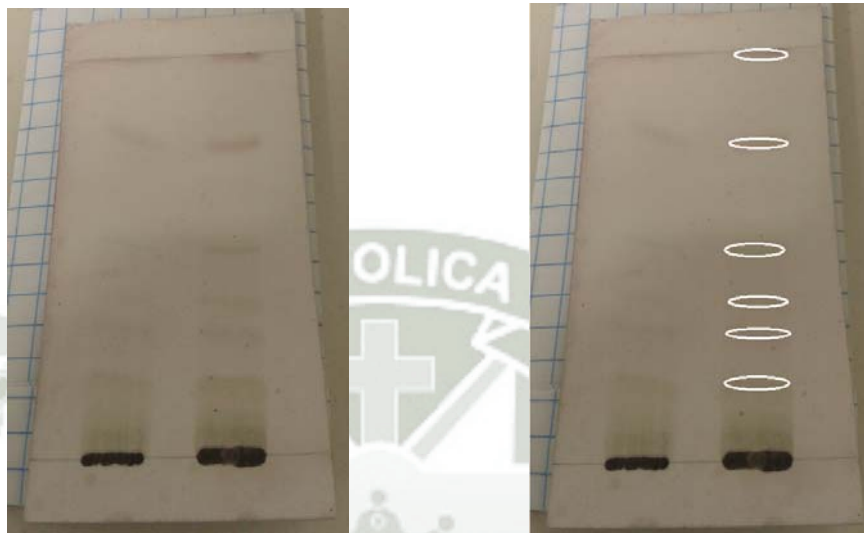
RESULTADO DEL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO GENERAL

Obs.	Color	Rf	Metabolitos
1	Verde	0.93	Terpenos
2	Morado	0.91	Terpenos
3	Azul	0.88	Terpenos
4	Morado	0.76	Terpenos
5	Morado	0.72	Terpenos
6	Morado	0.57	Terpenos
7	Morado	0.52	Terpenos
8	Morado	0.12	Terpenos

Fuente: Elaboración propia

Tal como se observa en la figura N° 11 y 12; y en el cuadro N° 3 tras el análisis cromatográfico a las hojas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) los compuestos detectados al parecer corresponden a terpenos.

La determinación de la naturaleza de los compuestos terpénicos, se realizó utilizando como disolvente tolueno y acetato de etilo; 93:7 respectivamente.



Figuras N°12 y 13: Análisis cromatográfico de terpenos del extracto fluido (1:5) de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada)

CUADRO N° 4

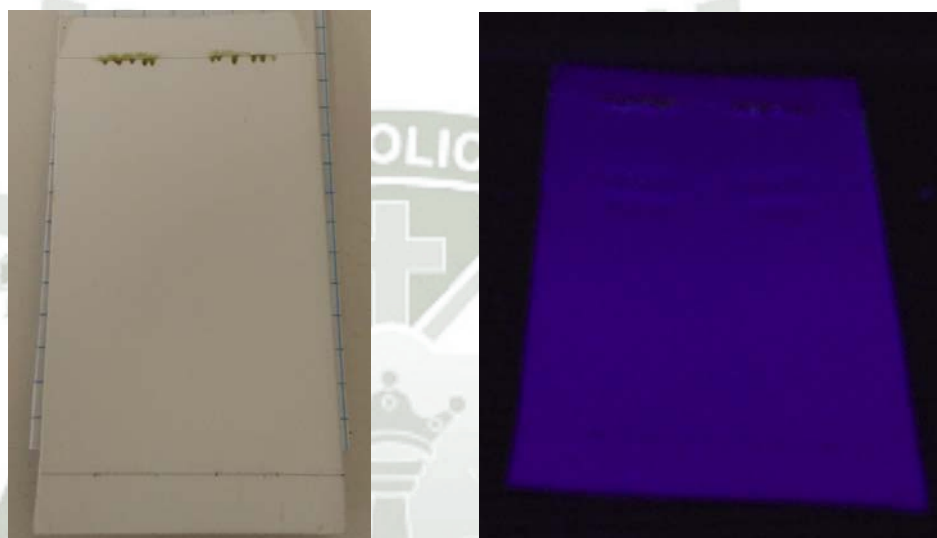
RESULTADO DEL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO TERPENOS

Obs.	Color	Rf	Metabolitos
1	Rojo oscuro	0.98	Saponinas
2	Rosa	0.75	Saponinas
3	Verde	0.43	Triterpenos y esteroides
4	Púrpura	0.32	Esteroles
5	Púrpura	0.28	Esteroles
6	Verde	0.16	Triterpenos y esteroides

Fuente: Elaboración propia

La observación del análisis cromatográfico según el cuadro N° 4 muestra la presencia de saponinas, esteroides, triterpenos y esteroides, lo cual confirma la presencia de terpenos.

Para la determinación de flavonoides se utilizó como sistema de disolventes acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico y agua (100:11:11:26) siendo el revelador una solución etanólica de cloruro de aluminio al 1%.



Figuras N°14 y 15: Análisis cromatográfico de flavonoides del extracto fluido (1:5) de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada)

Tal como lo muestra las figuras N° 15 y 16 no se observa fluorescencia amarilla bajo luz UV indicativa de flavonoides, por lo que se concluye que no existen flavonoides en el extracto de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada).

La determinación de la presencia de taninos en el extracto de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) se realizó utilizando como disolventes metanol y agua (90:10), siendo el revelador cloruro férrico.



Figuras N° 16 y 17: Análisis cromatográfico de taninos del extracto fluido (1:5) de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada)

CUADRO N° 5

RESULTADO DEL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO TANINOS

Obs.	Color	Rf	Metabolitos
1	Verde	0.91	Taninos
2	Verde	0.81	Taninos
3	Verde	0.68	Taninos
4	Verde	0.55	Taninos
5	Verde	0.45	Taninos

Fuente: Elaboración propia

La figura N° 17 y 18 y el cuadro N° 5 evidencian la presencia de taninos en el extracto de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada).

Los alcaloides fueron determinados utilizando como disolventes acetato de etilo, metanol y agua (90:10:10); utilizando como revelador el reactivo de Dragendorff.



Figuras N°18 y 19: Análisis cromatográfico de alcaloides del extracto fluido (1:5) de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada)

CUADRO N° 6

RESULTADO DEL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO ALCALOIDES

Obs.	Color	Rf	Metabolitos
1	Marrón	0.96	Alcaloides
2	Marrón	0.92	Alcaloides
3	Marrón	0.72	Alcaloides

Fuente: Elaboración propia

La figura N° 19 y 20 y el cuadro N° 6 muestran la presencia de alcaloides en el extracto de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada).

3.4. PREPARACIÓN DEL GEL CON EXTRACTO DE ORTIGA COLORADA

3.4.1.FÓRMULA

Acritamer	1.00 g
Sorbitol al 70%	5.00 g
Extracto de <i>Cajophora rosulata</i>	30.00 g
Polisorbato 20	2.50 g
Metilparabeno	0.08 g
Propilparabeno	0.02 g
Agua destilada csp	100.00 g
Trietanolamina csp	pH = 7

3.4.2.ELABORACIÓN

- Se pesaron los componentes de la fórmula.
- Se calentó el agua destilada a 60° C.
- Se disolvieron los parabenos y el sorbitol al 70%.
- Se dispersó mediante agitación el acritamer.
- Una vez disuelto el acritamer, se gelificó con la adición de trietanolamina, gota a gota hasta pH = 7.
- En un recipiente aparte se disolvió el polisorbato en el extracto, y se añadió al gel obtenido en el punto anterior.
- Se homogenizó mediante agitación.
- Se procedió al envasado del gel.

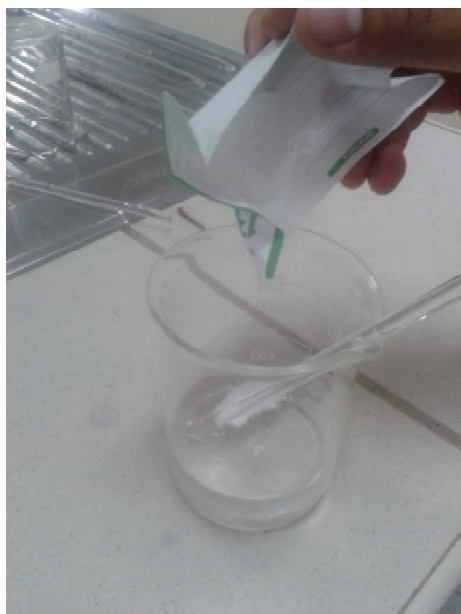


Figura N°20: Adición del acritamer



**Figura N°21: Alcalinización con
trietanolamina**



**Figura N°22: Incorporación del extracto fluido
de ortiga colorada a la base del gel**



**Figura N°23: Producto final: Gel con extracto
fluido de ortiga colorada al 30%**

3.5. EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO Y GEL DE *CAJOPHORA ROSULATA* (ORTIGA COLORADA)

Luego de la aclimatación de las ratas se procedió a la distribución de las mismas en forma aleatoria, procediendo al marcado para su identificación; se procedió a la medición del volumen de las patas de los animales (medición basal). Seguidamente se administró 1ml de la solución irritante constituida por carragenina al 2%, inmediatamente se administró los respectivos tratamientos. Al cabo de 1, 3, 5 y 7 horas se midió el volumen de la inflamación en el pletismómetro digital, después de cada medida se aplicó el respectivo tratamiento. Se consideró como tiempo 0 a la lectura realizada al inicio del tratamiento. Estas lecturas sirvieron de base para hallar los porcentajes de inflamación, con estos últimos se calculó el área bajo la curva versus tiempo. Los porcentajes de inflamación y el área bajo la curva se presentan a continuación, en tanto los ml medidos se recogen en el anexo N°1.



Figura N°24: Medición de pata inflamada en ml mediante pletismómetro digital

CUADRO N° 7

**PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN DEL GRUPO CONTROL
TRANSCURRIDOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS**

Animal N°	Porcentaje de la inflamación (%)			
	T1	T3	T5	T7
1	77.27	78.41	84.09	87.50
2	40.43	59.57	67.02	70.21
3	43.33	48.89	60.00	68.89
4	41.38	42.53	51.72	66.67
5	38.04	40.22	47.83	61.96

Fuente: Elaboración propia

CUADRO N° 8

**ÁREA BAJO LA CURVA DEL GRUPO CONTROL
% INFLAMACION vs TIEMPO**

Animal N°	Área bajo la curva			
	T1	T3	T5	T7
1	38.64	155.68	162.50	171.59
2	20.22	100.00	126.59	137.23
3	21.67	92.22	108.89	128.89
4	20.69	83.91	94.25	118.39
5	19.02	78.26	88.05	109.79
Media	24.05	102.01	116.06	133.18

Fuente: Elaboración propia

Un análisis descriptivo inicial del cuadro N°8 que recoge las áreas bajo la curva del grupo control constituido por 5 animales de experimentación, a los distintos tiempo, además de los promedios de dichas áreas para cada tiempo. Notamos que el proceso inflamatorio se encuentra en franco desarrollo. Se nota claramente entre el T1 y T3 el periodo inicial agudo del proceso inflamatorio, y a partir del tiempo denominado tiempo 3 el proceso tardío.

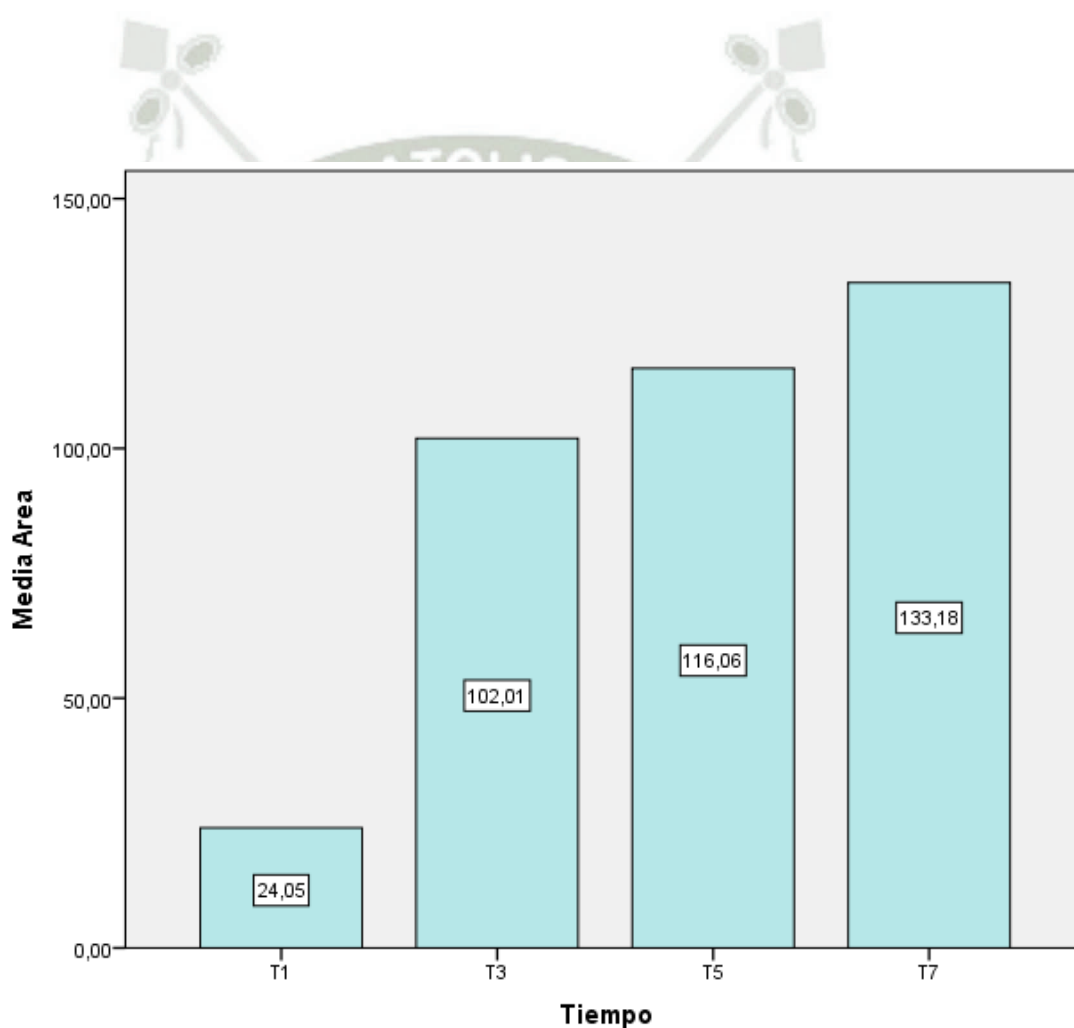


Figura N°25: Medias de las áreas bajo la curva a los distintos tiempos pertenecientes al grupo control

CUADRO N° 9

**PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN DEL GRUPO TRATADO CON
EXTRACTO DE CAJOPHORA ROSULATA (ORTIGA COLORADA)
TRANSCURRIDOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS**

Animal N°	Porcentaje de la inflamación (%)			
	T1	T3	T5	T7
1	28.89	44.44	36.67	16.67
2	23.60	39.33	42.70	25.84
3	35.80	35.80	40.74	34.57
4	42.68	51.22	34.15	15.85
5	42.86	39.29	25.00	21.43

Fuente: Elaboración propia

CUADRO N° 10

**ÁREA BAJO LA CURVA DEL GRUPO TRATADO CON EXTRACTO DE
CAJOPHORA ROSULATA (ORTIGA COLORADA)
% INFLAMACION vs TIEMPO**

Animal N°	Área bajo la curva			
	T1	T3	T5	T7
1	14.45	73.33	81.11	53.34
2	11.80	62.93	82.03	68.54
3	17.90	71.60	76.54	75.31
4	21.34	93.90	85.37	50.00
5	21.43	82.15	64.29	46.43
Media	17.38	76.78	77.87	58.72

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro N°10 a partir de los promedios calculados para cada tiempo de medición del área bajo la curva (a partir del porcentaje de inflamación) del grupo tratado con extracto de *Cajophora rosulata* se observa que existe un control de la inflamación luego de la aplicación del tratamiento. Observamos que el pico máximo de inflamación es de 77,87 de promedio, en comparación con el grupo control que fue de 133.18; este máximo pico cae en el tiempo denominado T7 a 58,72.

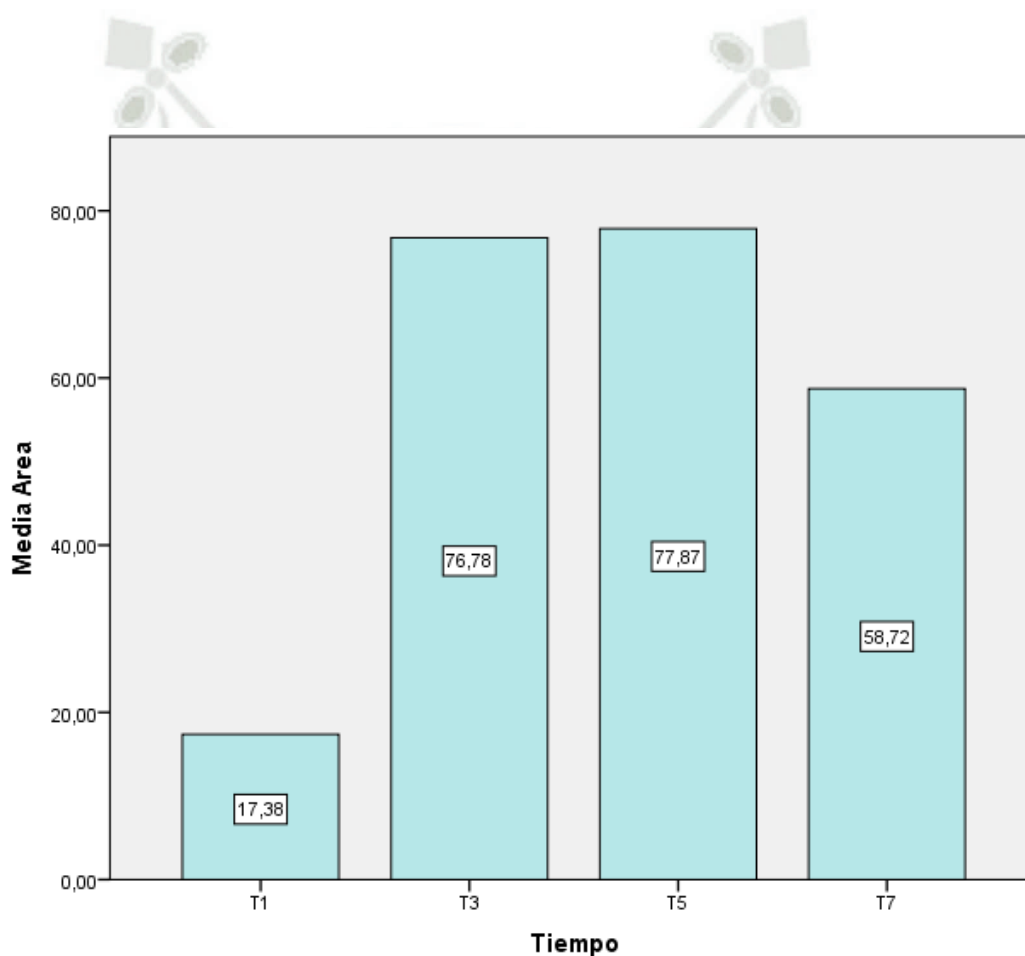


Figura N°26: Medias de las áreas bajo la curva a los distintos tiempos pertenecientes al grupo tratado con extracto de *Cajophora rosulata*

CUADRO N° 11

**PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN DEL GRUPO TRATADO CON GEL DE
EXTRACTO DE *CAJOPHORA ROSULATA* (ORTIGA COLORADA) AL 30%
TRANSCURRIDOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS**

Animal N°	Porcentaje de la inflamación (%)			
	T1	T3	T5	T7
1	28.89	44.44	36.67	16.67
2	23.60	39.33	42.70	25.84
3	35.80	35.80	40.74	34.57
4	42.68	51.22	34.15	15.85
5	42.86	39.29	25.00	21.43

Fuente: Elaboración propia

CUADRO N° 12

**ÁREA BAJO LA CURVA DEL GRUPO TRATADO CON GEL DE
EXTRACTO DE *CAJOPHORA ROSULATA* (ORTIGA COLORADA) AL 30%
% INFLAMACION vs TIEMPO**

Animal N°	Área bajo la curva			
	T1	T3	T5	T7
1	14.05	57.30	35.95	7.86
2	16.49	57.45	32.98	12.77
3	14.37	52.88	43.68	28.74
4	14.95	51.73	40.23	29.88
5	12.50	45.45	34.09	21.59
Media	14.47	52.96	37.39	20.17

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro N°12 observamos las medias de las áreas bajo la curva a los distintos tiempos en el grupo tratado con gel de extracto de *Cajophora rosulata* al 30%, en este cuadro a diferencia del anterior y del grupo control el pico de máxima área fue de 52.96, observándose luego un franco descenso y en el tiempo T7 se aprecia de un área promedio de solo 20.17.

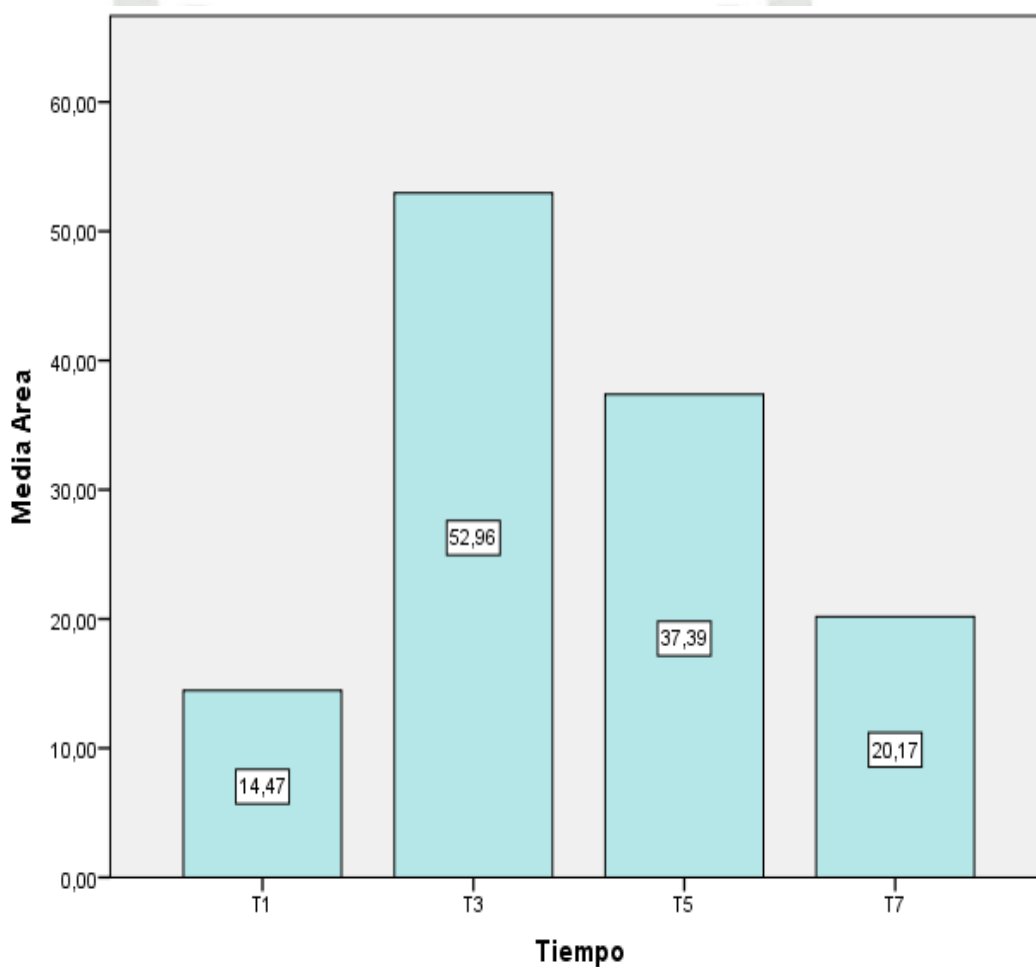


Figura N°27: Medias de las áreas bajo la curva a los distintos tiempos pertenecientes al grupo tratado con gel con extracto de *Cajophora rosulata* al 30%

CUADRO N° 13

**PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN DEL GRUPO TRATADO CON GEL
CON DICLOFENACO AL 1% TRANSCURRIDOS DURANTE LOS
DIFERENTES TIEMPOS**

Animal N°	Porcentaje de la inflamación (%)			
	T1	T3	T5	T7
1	22.22	16.67	16.67	11.11
2	37.36	31.87	25.27	15.38
3	44.94	37.08	23.60	1.12
4	26.44	8.05	1.15	1.15
5	17.50	10.00	50.00	2.50

Fuente: Elaboración propia

CUADRO N° 14

**ÁREA BAJO LA CURVA DEL GRUPO TRATADO CON GEL CON
DICLOFENACO AL 1%
% INFLAMACION vs TIEMPO**

Animal N°	Área bajo la curva			
	T1	T3	T5	T7
1	11.11	38.89	33.34	27.78
2	18.68	69.23	57.14	40.65
3	22.47	82.02	60.68	24.72
4	13.22	34.49	9.20	2.30
5	8.75	27.50	15.00	7.50
Media	14.85	50.43	35.07	20.59

Fuente: Elaboración propia

El cuadro N° 14 muestra los promedios de las áreas bajo la curva a los distintos tiempos (T1, T3, T5 y T7) del grupo de animales de experimentación que sirvieron como grupo control positivo, teniendo como referencia un gel de diclofenaco al 1%. Se observa en los valores y en el gráfico respectivo cierta similitud con el grupo tratado con gel con extracto de *Cajaphora rosulata* al 30%, cuyos resultados se encuentran en el cuadro anterior. Su pico máximo fue de 50.43 y como valor más bajo al tiempo T7 de 20.59.

Luego de estos resultados es imprescindible realizar un análisis estadístico tendiente a comparar todos los grupos, y ver si existen diferencias significativas entre los distintos grupos de tratamiento.

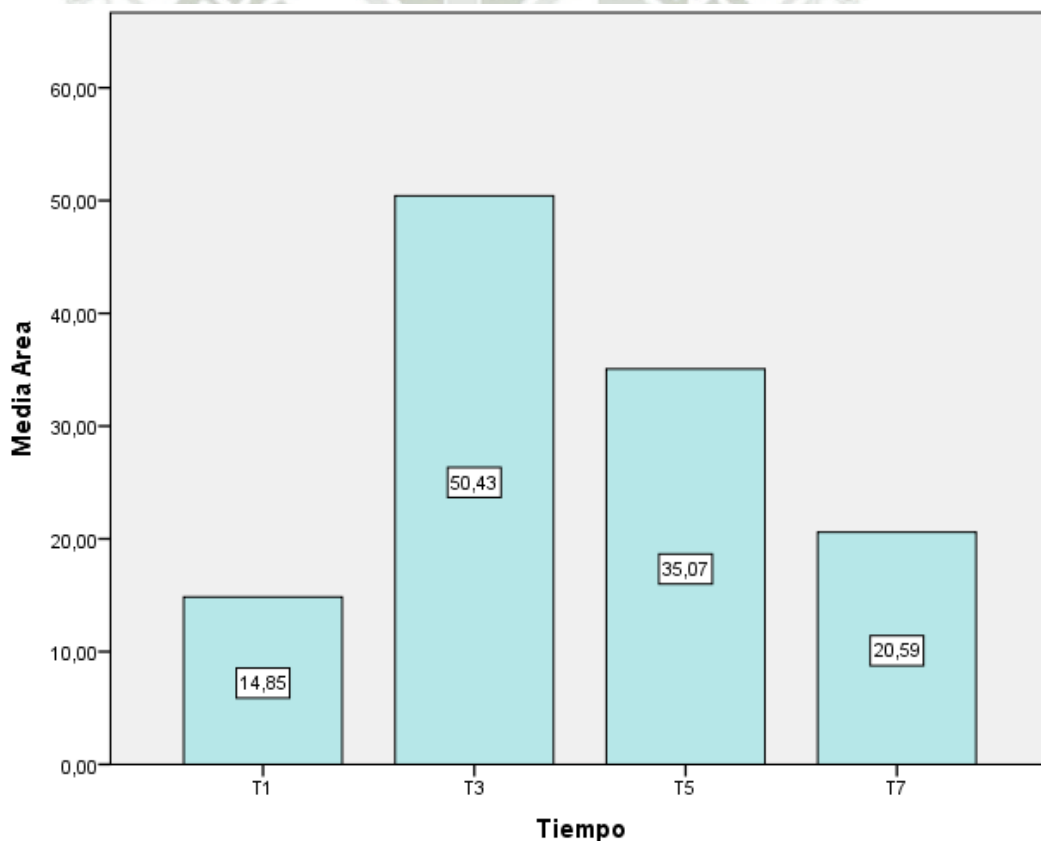


Figura N°28: Medias de las áreas bajo la curva a los distintos tiempos pertenecientes al grupo tratado con gel de diclofenaco al 1%

El cuadro N° 15 muestra los resultados correspondientes a los estadísticos descriptivos aplicados a las áreas bajo la curva de los distintos tratamientos, que se exponen en los cuadros 8, 10, 12 y 14, áreas que fueron calculadas a partir de los porcentajes de inflamación (cuadros N° 7, 9 11 y 13), en este sentido observamos que el grupo que tiene mayor promedio de área bajo la curva – y por tanto mayor porcentaje de inflamación – es el grupo perteneciente al control, recordemos que a este grupo no se le administró tratamiento alguno. Por otro lado el grupo que tiene menor porcentaje de inflamación es el grupo tratado con gel de diclofenaco al 1%, con 120.93 de promedio. Por su parte el gel con extracto de ortiga colorada al 30% ocupa un “segundo lugar” con 124.99 de media de área bajo la curva, seguido del grupo tratado con extracto de ortiga colorada con 230.76.

En cuanto a la dispersión de nuestros datos, para los grupos tratados con extracto de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) y el gel con extracto de ortiga colorada al 30% se muestran menos dispersos, es decir, las mediciones se encuentran muy cerca alrededor de la media, el grupo tratado con gel de diclofenaco evidencia una dispersión modesta, en cambio el grupo control los datos fueron muy dispersos, esto mismo se evidencia con la amplitud del rango. Esto se debe a que en el grupo control hubo un animal que mostró mayor inflamación constituyendo un dato atípico, fundamentado en la variabilidad biológica de los seres vivos, es por ello que a efectos de análisis de este grupo es preferible observar la mediana, que no se ve afectada por estos valores extremos.

CUADRO N° 15

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DEL ÁREA BAJO LA CURVA DE LOS DISTINTOS GRUPOS DE TRATAMIENTO

Tipo de tratamiento	Media	Mediana	Desv. típ.	Varianza	Rango	Máximo	Mínimo	N
"Control"	375.30	351.67	92.03	8469,31	233.29	528.41	295.12	5
Extracto de ortiga colorada	230.76	225.30	14.83	219,92	36.31	250.61	214.30	5
Gel con extracto de ortiga colorada	124.99	119.69	12.33	152,13	26.04	139.67	113.63	5
Diclofenaco	120.93	111.12	64.66	4180,65	131.14	189.89	58.75	5
Total	212.99	202.10	118.43	14025,05	469.66	528.41	58.75	20

Fuente: *Elaboración propia*

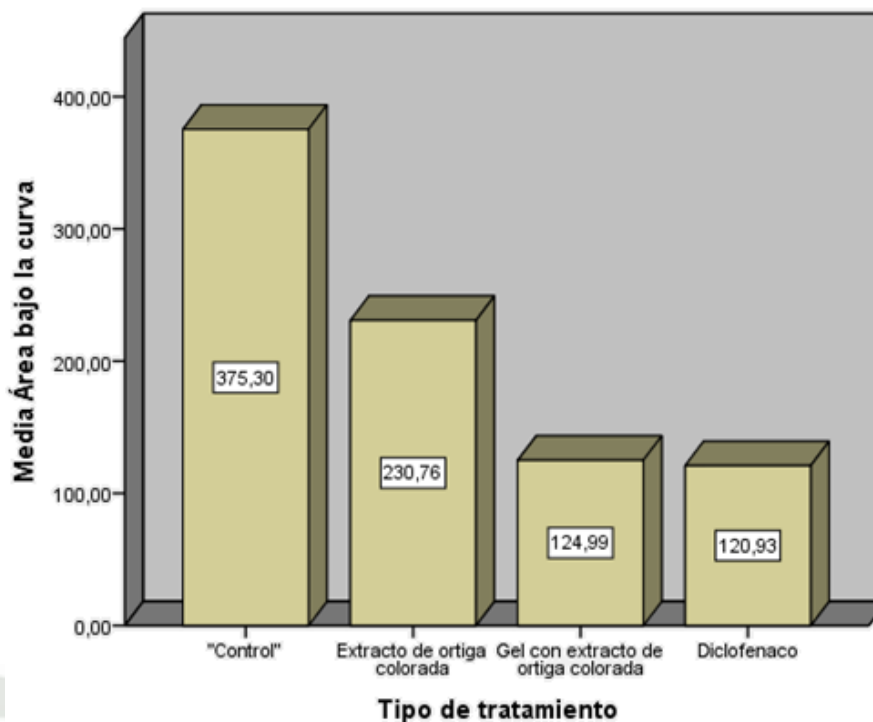


Figura N°29: Medias del área bajo la curva de los grupos de tratamiento

CUADRO N° 16

**ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL ÁREA BAJO LA CURVA DE
LOS DISTINTOS GRUPOS DE TRATAMIENTO**

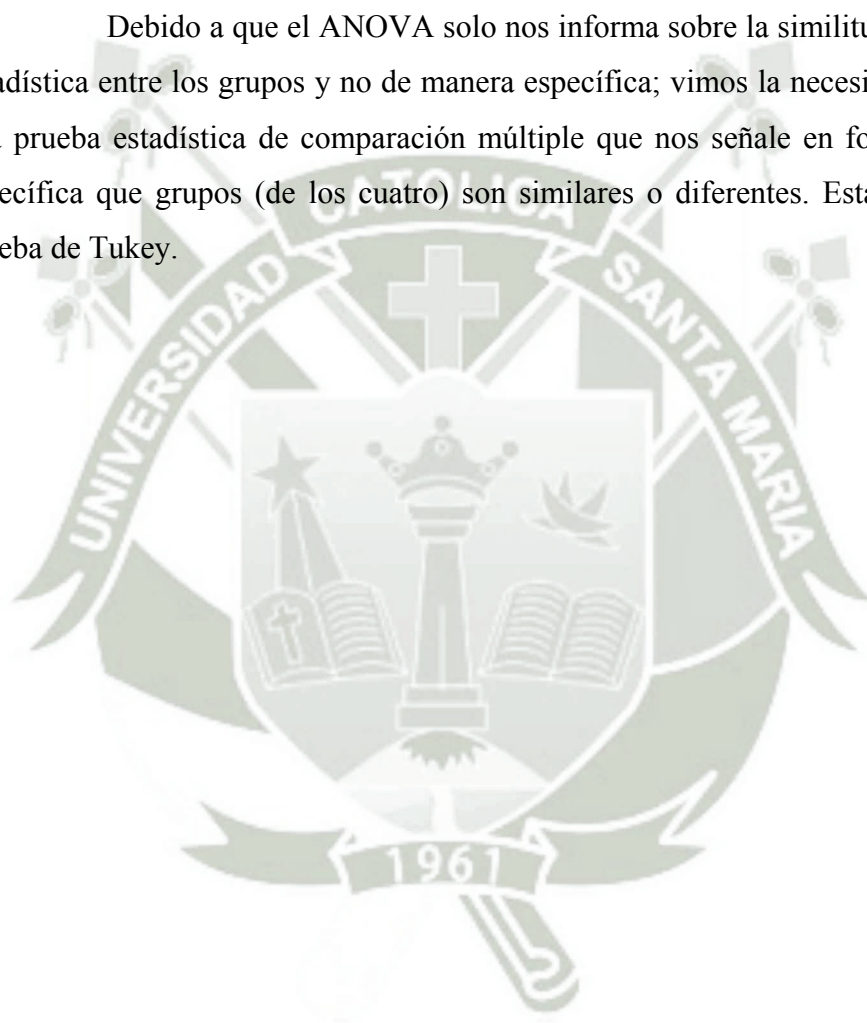
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	214387,99	3	71462,66	21,95	,000
Intra-grupos	52087,99	16	3255,50		
Total	266475,99	19			

Fuente: Elaboración propia

El cuadro N° 16 nos muestra los resultados del Análisis de varianza (ANOVA) realizado mediante el paquete estadístico IBM SPSS; este estadístico fue calculado con la finalidad de observar si los grupos experimentales difieren entre sí

con relación a sus medias y varianzas. En este sentido apreciamos que los cuatro grupos experimentales (control, con extracto de ortiga colorada, con gel con extracto de ortiga colorada y diclofenaco) difieren entre sí. Llegamos a esta conclusión debido a que el valor de Sig es igual a 0.000, valor que es inferior a 0.005 que es el nivel de confianza elegido para este estudio. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis de investigación que asume que los grupos si son estadísticamente diferentes.

Debido a que el ANOVA solo nos informa sobre la similitud o diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; vimos la necesidad de aplicar una prueba estadística de comparación múltiple que nos señale en forma precisa y específica que grupos (de los cuatro) son similares o diferentes. Esta prueba es la prueba de Tukey.



CUADRO N° 17

PRUEBA DE COMPARACIÓN MÚLTIPLE O “DE TUKEY” APLICADO A LOS DISTINTOS GRUPOS ESPERIMENTALES

(I) Tipo de tratamiento	(J) Tipo de tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
"Control"	Extracto de ortiga colorada	144.54*	36.09	,005	41.29	247.78
	Gel con extracto de ortiga colorada	250.31*	36.09	,000	147.06	353.55
Extracto de ortiga colorada	Diclofenaco	254.36*	36.09	,000	151.12	357.60
	"Control"	-144.54*	36.09	,005	-247.78	-41.29
Gel con extracto de ortiga colorada	Gel con extracto de ortiga colorada	105.77*	36.09	,044	2.53	209.01
	Diclofenaco	109.82*	36.09	,035	6.58	213.07
Gel con extracto de ortiga colorada	"Control"	-250.31*	36.09	,000	-353.55	-147.06
	Extracto de ortiga colorada	-105.77*	36.09	,044	-209.01	-2.53
Diclofenaco	Diclofenaco	4.05	36.09	,999	-99.19	107.29
	"Control"	-254.36*	36.09	,000	-357.60	-151.12
Diclofenaco	Extracto de ortiga colorada	-109.82*	36.09	,035	-213.07	-6.58
	Gel con extracto de ortiga colorada	-4.05	36.09	,999	-107.29	99.19

Fuente: *Elaboración propia*

De acuerdo a la prueba HSD o de Tukey, mostrada en el cuadro N° 17, existen diferencias significativas aquellos pares cuyo valor Sig es menor o igual a 0.005, y existe similitud entre los pares con un valor Sig mayor a 0.005. En este sentido en el cuadro, existe diferencia significativa los valores sig cuya diferencia de medias lleva un asterisco como superíndice y que se corresponde con un valor Sig menor o igual a 0.005. Por lo que el grupo control es significativamente diferente a los otros grupos; y el grupo tratado con extracto fluido de ortiga colorada es diferente del grupo control, gel de diclofenaco y gel con extracto fluido de ortiga colorada; y estos dos últimos a su vez son estadísticamente distintos de los dos primeros.

De acuerdo a los resultados obtenidos hasta el momento podemos decir, que el gel con extracto de ortiga colorada (1:5) al 30% tiene una eficacia experimental preclínica similar al grupo tratado con gel de diclofenaco al 1%, ya que muestran promedios de área bajo la curva (porcentaje de inflamación) cercanos y estadísticamente similares; un lugar intermedio es ocupado por el grupo tratado con extracto etanólico (1:5) de *Cajophora rosulata*, al final se encuentra el grupo control con un elevado promedio de área bajo la curva. Esto dicho anteriormente se puede apreciar mejor mediante el cuadro N° 18 que muestra los subconjuntos homogéneos provenientes de la prueba de Tukey, a un nivel de confianza del 0.005.

CUADRO N° 18

**SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS CORRESPONDIENTES A LA PRUEBA
DE COMPARACIÓN MÚLTIPLE O “DE TUKEY”**

Tipo de tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.005		
		1	2	3
Diclofenaco	5	120.934		
Gel con extracto de ortiga colorada	5	124.988		
Extracto de ortiga colorada	5		230.758	
"Control"	5			375.296
Sig.		,999	1,000	1,000

Fuente: Elaboración propia

El cuadro N°18 de los subconjuntos homogéneos que corresponde al procedimiento de Tukey, permite apreciar claramente dicho procedimiento, observamos que el grupo tratado con diclofenaco y el tratado con gel con extracto de ortiga colorada constituyen un solo subconjunto homogéneo, que se diferencia del subconjunto 2 conformado solo por el extracto de ortiga colorada, y este a su vez del subconjunto 3 conformado solo por el grupo control; siendo este último también diferente de los anteriores.

DISCUSIÓN

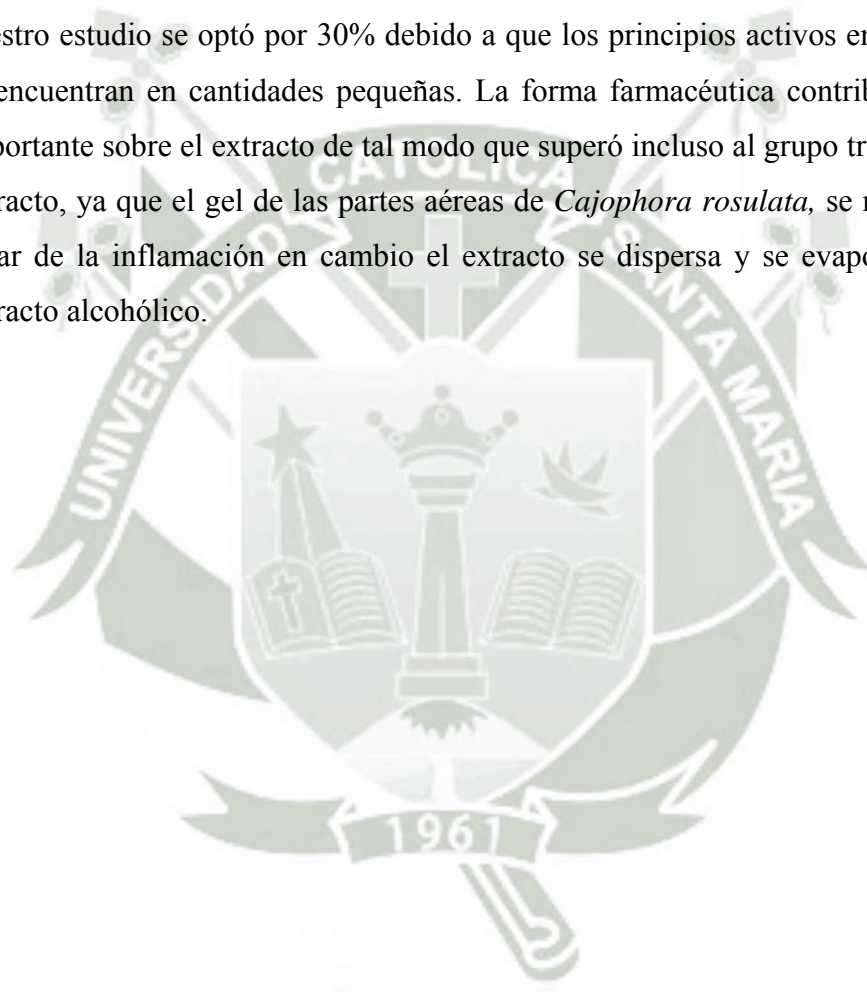
El proceso inflamatorio es una respuesta fisiológica ante la injuria, sin embargo, su continuidad puede generar daño tisular, es por ello que muchas veces el objetivo es inhibir dicho proceso mediante técnicas que incluyen el uso de antiinflamatorios no esteroides (AINES) y corticoides. Además de ello existen en el reino vegetal plantas medicinales que tienen actividad antiinflamatoria y que la comunidad utiliza. La ortiga colorada es una planta medicinal que crece en la ciudad de Arequipa en zonas como los alrededores del distrito de Chiguata y que los pobladores indican que tiene acción antiinflamatoria, siendo usada para tratar dolores de “reumatismo”.

El presente estudio evaluó la supuesta actividad antiinflamatoria de la ortiga colorada o *Cajophora rosulata* mediante la inducción de un edema plantar en animales de experimentación. Para la obtención del extracto se utilizó el método extractivo del Soxhlet, ya que al ser un método continuo favorece la extracción casi completa de las sustancias disueltas en el vegetal. (Kukllinski C. 2000) Este método es muy probable que no afecte los resultados sobre el efecto antiinflamatorio ya que la población utiliza también la ortiga colorada mediante la aplicación de compresas calientes.

El análisis fitoquímico preliminar señala la presencia de sustancias terpénicas, esteroides, esteroides, saponinas y alcaloides. Las sustancias terpénicas que comprende una gran familia provenientes de la ruta de condensación isoprénica (Bruneton J. 2001) incluyen a los aceites esenciales, saponinas, y sesquiterpenos. Todos ellos muestran efecto antiinflamatorio, más aún si se sabe que las saponinas son utilizadas para la hemisíntesis de algunos corticoides (Villar del Fresno A. 2000), los aceites esenciales tienen un efecto ligeramente irritante que origina una vasodilatación con analgesia subsecuente (Kukllinski C. 2000), además es conocida su acción inhibitoria de la síntesis de prostaglandinas aunque por mecanismos no del todo esclarecidos.

La actividad antiinflamatoria de los tratamientos fue observada mediante el cálculo del área bajo la curva, opción que permite una visión general del proceso

inflamatorio, evitando un análisis parcial (hora a hora de tratamiento) de los tratamientos, tal como sucedió en todas las investigaciones realizadas en nuestro medio para corroborar el efecto antiinflamatorio, sin embargo se puede hacer una comparación con esta área ya que el origen de este dato es precisamente los ml de inflamación. Así en otras investigaciones se ha visto un promedio en ml de inhibición de 0.7ml (García Gutiérrez. 2008) en donde fue la uña de gato en asociación con la caléndula, probablemente este promedio menor al nuestro (de 1.2ml) se deba a que en este estudio se utilizó un 4% (2% para cada extracto) de extractos en el hidrogel; en otras investigaciones consultadas se llegó a 10%; en nuestro estudio se optó por 30% debido a que los principios activos en los vegetales se encuentran en cantidades pequeñas. La forma farmacéutica contribuyó de modo importante sobre el extracto de tal modo que superó incluso al grupo tratado solo con extracto, ya que el gel de las partes aéreas de *Cajophora rosulata*, se mantiene en el lugar de la inflamación en cambio el extracto se dispersa y se evapora por ser un extracto alcohólico.



CONCLUSIONES

PRIMERA

Se demostró el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las partes aéreas de *Cajaphora rosulata* (ortiga colorada) en un modelo experimental preclínico.

SEGUNDA

La marcha fitoquímica preliminar del extracto fluido de *Cajaphora rosulata* (ortiga colorada) reveló la presencia de terpenos, saponinas, esteroides, esteroides, taninos y alcaloides.

TERCERA

Se formuló un hidrogel conteniendo extracto fluido de *Cajaphora rosulata* (ortiga colorada) en una concentración de 30%.

CUARTA

Se midió la actividad inflamatoria inducida por carragenina, hallándose que el grupo que se trató con el gel del diclofenaco mostro menor área bajo la curva (120.93), seguido por el grupo tratado con gel con extracto de ortiga colorada (124.99); seguido del grupo con extracto de ortiga colorada (230.76).

QUINTA

El gel con extracto de ortiga colorada al 30% mostro una eficacia antiinflamatoria estadísticamente similar al gel de diclofenaco al 1%.



SUGERENCIAS

PRIMERA

Determinar la toxicidad aguda y crónica; local y sistémica del extracto fluido de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) en animales de experimentación, a fin de establecer la seguridad de dicho extracto.

SEGUNDA

Realizar estudios pre clínicos en otras especies de animales y clínicos con el objetivo de confirmar la eficacia del gel con extracto fluido de ortiga colorada al 30% como medicamento herbario con actividad antiinflamatoria tópica.

TERCERA

Realizar un estudio comparativo de la actividad antiinflamatoria entre la *Urtica dioica* (ortiga común) y *Cajaphora rosulata* (ortiga colorada), además de comparar su composición química.

CUARTA

Confirmar las otras propiedades medicinales que atribuye la población a *Cajaphora rosulata* (ortiga colorada), mediante investigaciones que utilicen el método científico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios: FORMULARIO NACIONAL. 1ª Edición. 2003. Ministerio de Sanidad y Consumo de España.
2. Aldave Pajares Augusto; Mostacero León José: BOTÁNICA FARMACÉUTICA. 1ª Edición. 1988. Editorial Libertad. Lima, Perú.
3. Alonso Jorge: TRATADO DE FITOMEDICINA BASES CLÍNICAS Y FARMACOLÓGICAS. 1ª Edición. 2004. Editorial ISIS. Argentina.
4. Alvarado Alva J.: APUNTES DE FARMACOLOGÍA. 3ª Edición, 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
5. Bowman W.C. y Rand M.J.: FARMACOLOGÍA BASES BIOQUÍMICAS Y PATOLÓGICAS APLICACIONES CLÍNICAS, 2ª Edición. 1984. Nueva Editorial Interamericana, México D.F.
6. Brack Egg Antonio: DICCIONARIO ENCICLOPÉDICO DE PLANTAS ÚTILES DEL PERÚ. 1ª Edición. 1999.
7. Bravo Díaz Luis: FARMACOGNOSIA. 1ª Edición. 2003. Editorial Elsevier. Madrid, España.
8. Bruneton J.: FARMACOGNOSIA FITOQUÍMICA PLANTAS MEDICINALES. 2ª Edición. 2001. Editorial Acribia S.A.
9. CANO CAHUANA Y MARES SAIHUA M.: “Análisis fitoquímico y Evaluación del Efecto antiinflamatorio tópico de la Resina Purificada de *Azorella compacta* Phil sobre la inflamación experimental en ratas. 1999”. Universidad Católica Santa María. Arequipa, 1999.
10. C. Rozman: COMPENDIO DE MEDICINA INTERNA, 2ª Edición. 2002. Ediciones Harcourt S.A.
11. Carrasco Díaz S.; METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, 1ª Edición. 2005. Editorial San Marcos. Lima, Perú.
12. Dorland DICCIONARIO MÉDICO, 26ª Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana.

13. Farreras Rozman: MEDICINA INTERNA, 13ª Edición. 2003. Editorial Elsevier.
14. Flórez Jesús: FARMACOLOGÍA HUMANA, 5ª Edición. 2008. Editorial Elsevier España.
15. GARCÍA GUTIÉRREZ, ZEA CHÁVEZ: “Efecto antiinflamatorio tópico de la asociación de *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) y *Calendula officinalis* (caléndula) en el edema inducido experimentalmente en ratas”. Universidad Católica de Santa María, Arequipa. 2008
16. Gennaro Alfonso: REMINGTON FARMACIA. 19ª Edición. Editorial Médica Panamericana. 1999
17. HARMAN J., LIMBIRT L. Y GILMAN A.: LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA, 11ª Edición. 2008. McGraw-Hill Interamericana.
18. HARVEY R. & CHAMPE P. (Editors): PHARMACOLOGY. 4ª Edición, 2009. Lippincott Edition.
19. HERNÁNDEZ SAMPIERI R., FERNÁNDEZ COLLADO C.: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN, 5ª Edición, 2010. McGRAW HILL Interamericana Editores.
20. KATZUNG BERTRAM G.: FARMACOLOGÍA BÁSICA Y CLÍNICA. 11ª Edición, 2009. Editorial McGraw Hill Interamericana.
21. KUKLLINSKI CLAUDIA: FARMACOGNOSIA, ESTUDIO DE LAS DROGAS Y SUSTANCIAS MEDICAMENTOSAS DE ORIGEN NATURAL, 1ª Edición, 2000. Ediciones Omega S.A.
22. LOCK DE UGAZ O.: COLORANTES NATURALES. 1ª Edición. 1994. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
23. LOCK DE UGAZ O.: INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA MÉTODOS EN EL ESTUDIO DE PRODUCTOS NATURALES. 1ª Edición. 1988. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
24. Lorenzo P., Moreno A., Leza J.C. y Moro M.A.: VELÁZQUEZ FARMACOLOGÍA BÁSICA Y CLÍNICA, 18ª Edición. 2009. Editorial Médica Panamericana.

25. MARACANO, DEANNA Y HASEGAWA MASAHISA: FITOQUÍMICA ORGÁNICA, 2ª Edición. 2002. Editorial Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Venezuela.
26. MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO DE ESPAÑA: FORMULARIO NACIONAL, 1ª Edición. 2003. Editorial Ministerio de Sanidad y Consumo de España.
27. MOSTACERO J.; MEJIA F.; GAMARRA O.: TAXONOMÍA DE LAS FANERÓGAMAS ÚTILES DEL PERÚ. 1ª Edición. 2002. Editorial Normas Legales S.A.C. Perú.
28. PEREA LAYME CARLA Y VALERO CONDOY ONELIA: “Estudio del efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las flores de *Calendula officinalis* L (caléndula) y su relación con el contenido de flavonoides”. Universidad Católica de Santa María, Arequipa. 2002.
29. RANG H. & DALE M.: PHARMACOLOGY, 6ª Edition, 2007. Editorial Elsevier.
30. RODES TEIXIDOR, GUARDIA MASSÓ: Medicina Interna. Editorial Masson SA. España 1997.
31. ROWE R.; SHESKEY P. & OWEN S. (Editores): HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS. 5ª Edición. 2006. Pharmaceutical Press.
32. SHARAPIN NIKOLAI: FUNDAMENTOS DE TEGNOLOGÍA DE PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS. 1ª Edición. 2000. Santa Fe de Bogotá, Colombia.
33. SKOOG D.; LEARY J.: ANÁLISIS INSTRUMENTAL. 4ª Edición. 1994. Editorial McGraw-Hill.
34. SOTTA APAZA NORMA: PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS DE LA REGIÓN AREQUIPA. 1ª Edición 2000. Ediciones CORDAID.
35. Swarbrick J.: ENCYCLOPEDIA OF PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY. 3ª Edición. 2007. Editorial Advisory Board.
36. TALAVERA VASQUEZ ERIKA: “Análisis fitoquímico y ensayo farmacológico de la actividad antiinflamatoria de los extractos del tubérculo de *Dracontium*

lorwetense Krouse (jergón sacha)". Universidad Católica de Santa María, Arequipa. 1998.

37. TEJADA CANO M. (Director): ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD CUENTA DEL COTAHUASI: LA UNIÓN AREQUIPA FLORA MEDICINAL. 1ª Edición. 1998. Asociación Especializada para el desarrollo.
38. VILA JATO JOSÉ LUIS (Editor): TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA. 1ª Edición 2001. Editorial SINTESIS S.A.
39. VILLAR DEL FRESNO A. (Editor): FARMACOGNOSIA GENERAL. 1ª Edición 2000. Editorial Síntesis S.A.
40. VOIG RUDOLF: TRATADO DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA. 3ª Edición. 1982. Editorial Acribia, España.





ANEXO 1: MILILITROS DE INFLAMACIÓN EN PLETISMÓMETRO

GRUPO CONTROL

Animal N°	Mililitros en pletismómetro				
	T0	T1	T3	T5	T7
1	0.88	1.56	1.57	1.62	1.65
2	0.94	1.32	1.50	1.57	1.60
3	0.90	1.29	1.34	1.44	1.52
4	0.87	1.23	1.24	1.32	1.45
5	0.92	1.27	1.29	1.36	1.49

Fuente: Elaboración propia

GRUPO CON EXTRACTO DE *CAJOPHORA ROSULTATA* (ORTIGA COLORADA)

Animal N°	Mililitros en pletismómetro				
	T0	T1	T3	T5	T7
1	0.90	1.16	1.30	1.23	1.05
2	0.89	1.10	1.24	1.27	1.12
3	0.81	1.10	1.10	1.14	1.09
4	0.82	1.17	1.24	1.10	0.95
5	0.84	1.20	1.17	1.05	1.02

Fuente: Elaboración propia

**GRUPO CON GEL AL 30% DE EXTRACTO DE *CAJOPHORA ROSULTATA*
(ORTIGA COLORADA)**

Animal N°	Mililitros en pletismómetro				
	T0	T1	T3	T5	T7
1	0.89	1.14	1.15	0.95	0.90
2	0.94	1.25	1.17	1.02	0.98
3	0.87	1.12	1.08	1.04	0.95
4	0.87	1.13	1.06	1.03	0.97
5	0.88	1.10	1.06	1.00	0.95

Fuente: Elaboración propia

GRUPO CON GEL DE DICLOFENACO AL 1%

Animal N°	Mililitros en pletismómetro				
	T0	T1	T3	T5	T7
1	0.90	1.10	1.05	1.05	1.00
2	0.91	1.25	1.20	1.14	1.05
3	0.89	1.29	1.22	1.10	0.90
4	0.87	1.10	0.94	0.88	0.88
5	0.80	0.94	0.88	0.84	0.82

Fuente: Elaboración propia

ANEXO 2: FASES MÓVILES Y SOLVENTES UTILIZADOS

1. GENERAL

a. Fase móvil:

Acetato de etilo	:	Metanol	:	Agua
77	:	15	:	8

Utilizada en la separación de monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos con grupos funcionales polares.

b. Reactivo de vainillina-ácido sulfúrico

– Composición

Solución A

Vainillina..... 1g

Etanol csp..... 100ml

Solución B

Ácido sulfúrico concentrado..... 5 ml

Etanol csp..... 100ml

– Procedimiento

Pulverizar la placa con la solución A y dejar secar, luego con la solución B someter la placa a 110°C durante 10 minutos. Es un reactivo denominado universal o general ya que tiene amplio uso en la determinación de patrones cromatográficos.

– Detección

Terpenoides, fenoles, derivados fenilpropánicos, aceites esenciales.

2. TERPENOS

a. Fase móvil:

Tolueno	:	Acetato de etilo
93	:	7

Utilizada en la separación de terpenos, saponinas terpenoidales, aceites esenciales.

b. Reactivo de Liebermann Burchard

– Composición

Mezclar 5 ml de ácido acético y 5ml de ácido sulfúrico concentrado. Esta mezcla se agrega con cuidado y enfriando a 50 ml de etanol (preparar poco antes de su uso).

– Procedimiento

La placa rociada es calentada a 100°C por 10 minutos e inspeccionar a luz UV 254 nm. El reactivo es estable durante un día.

– Detección

Triterpenos y esteroides (verde), esteroles (púrpura rojizo a azul verdoso), y saponinas (rosa o rojo oscuro).

3. FLAVONOIDES

a. Fase móvil:

Acetato de etilo : Ácido acético : Ácido fórmico : Agua
100 : 11 : 11 : 26

Utilizada en la separación de compuestos polares, especialmente flavonoides y fenoles.

b. Reactivo de cloruro de aluminio

– Composición

Cloruro de aluminio..... 1 g
Etanol csp..... 100 ml

– Procedimiento

Pulverizar la placa con la solución preparada y observar a la luz UV-365nm.

– Detección

Flavonoides, observar fluorescencia amarilla.

4. TANINOS

a. Fase móvil:

Metanol	:	Agua
90	:	10

Utilizada en la separación de compuestos polifenólicos (taninos).

b. Reactivo de cloruro férrico

– Composición

Cloruro férrico.....	1 g
Etanol esp.....	100 ml

– Procedimiento

Pulverizar la placa con la solución recientemente preparada y dejar secar, después se somete la placa a 110°C durante 10 minutos.

– Detección

Flavonoides, fenoles y taninos generando manchas azules, rojas, verdes y marrones.

5. ALCALOIDES

a. Fase móvil:

Acetato de etilo	:	Metanol	:	Agua
90	:	10	:	10

Utilizada en la separación de compuestos nitrogenados (alcaloides).

b. Reactivo de Dragendorff

– Composición

Solución A

Disolver 0.85 g de nitrato básico de bismuto en 10 ml de ácido acético y 40 ml de agua tibia, si es necesario filtrar.

Solución B

Disolver 8 g de yoduro de potasio en 30 ml de agua destilada.

Solución Stock

Mezclar Ay B (1:1)

Spray

1ml de la solución stock es mezclado con 2 ml de ácido acético y 10 ml de agua tibia.

– Procedimiento

El reactivo recientemente preparado se aplica sobre la placa pulverizándola y luego dejándola secar.

– Detección

Detecta alcaloides y compuestos nitrogenados heterocíclicos debido a la presencia de unas manchas anaranjadas o marrones sobre fondo amarillo. Las coloraciones no son estables.

ANEXO 3: EXCIPIENTES DEL GEL CON EXTRACTO AL 30% DE ORTIGA COLORADA

ACRITAMER

Nombre genérico

Formulario Británico, Farmacopea Europea, Formulario Nacional y Farmacopea de los Estados Unidos: Carbomer

Sinónimos

Acrytamer, Polímero del ácido acrílico, Carbopol, carboxivinil polímero, Ultrez, Ácido poliacrílico, Pemulen.

Nombre químico y número de registro CAS:

Carbomer [9003-01-4]

Los carbómeros 910, 934, 934P, 940, 941, 971P y las resinas del 974P comparten el número CAS [9003-01-4] común. Carbomer 1342 es un copolímero y tiene a un CAS diferente.

Fórmula empírica y peso molecular

Los carbómeros son polímeros de alto peso molecular del ácido acrílico unidos con alilsucrosa o alil éteres del pentaeritrol, contienen entre 56 a 68% de grupos de ácidos carboxílicos (COOH), calculado como base seca, existen diferentes tipos de carbómeros éstos clasificados según su peso molecular aproximado, el cual también variará su viscosidad en medio acuoso.

Fórmula estructural

Los polímeros de carbómero están formados por unidades repetidas del ácido acrílico – la que se muestra arriba – las cadenas del polímero forma enlaces cruzados con sucrosa o pentaeritrol de alilo.

Categoría funcional

Agente emulsificante, agente para suspensiones, agente ligante para tabletas, agente incrementador de la viscosidad.

Aplicaciones en tecnología farmacéutica.

Los carbómeros son usados en la formulación de líquidos y semisólidos es usado en la formulación de cremas, geles y pomadas y puede ser usado en preparaciones oftálmicas tópicas y rectales.

Algunos grados de carbómeros con bajo contenido de benceno residual como carbómer 934P o 974P pueden ser usados en formulaciones de administración oral (suspensiones, tabletas o formulaciones de tabletas de liberación prolongada), en formulaciones de tabletas los carbómeros pueden ser usados como ligante en el proceso de compresión directa o granulación húmeda (aquí el agua es usada como líquido granulante).

Los carbómeros son usados como emulsificantes en la preparación de emulsiones aceite /agua para uso externo. Para este propósito, el carbómero es neutralizado parcialmente con hidróxido de sodio y con una amina de cadena larga como estearilamina, también son usados en cosméticos.

Descripción

Polvo blanco, de aspecto esponjoso, ácido, higroscópico con un leve olor a característico.

Propiedades físicas

- *Acidez alcalinidad:*
 - 2,7-3,5 para dispersión acuosa al 0.5% p/v
 - 2,5-3,0 para dispersión acuosa al 1% p/v
- *Punto de fusión:* 260°C.
- *Contenido de humedad:* El contenido de humedad normal es superior al 2% p/p, sin embargo, los carbómeros son higroscópicos y el típico equilibrio de humedad a 25°C y 50% de humedad relativa ambiental es 10%; el contenido de humedad no afecta su acción y eficiencia, pero en incremento del porcentaje de humedad dificulta mucho su manipulación y es más difícil de dispersar.
- *Distribución del tamaño de partícula:* El tamaño de partícula promedio es 2 a 7 μm .
- *Solubilidad:* Soluble en agua y después de ser neutralizado en etanol 95% y glicerina.
- *Gravedad específica:* 1,41 g/ml
- *Viscosidad (dinámica):* Carbomer disperso en agua forma soluciones coloidales ácidas con poca viscosidad, la cual es incrementada enormemente cuando es neutralizada. El carbomer polvo debe ser dispersado en agua con agitación vigorosa, teniendo cuidado con la formación de grupos no dispersables, luego debe ser neutralizado con adición de una base, los agentes que pueden ser usados para la neutralización del carbomer incluyen: aminoácidos, bórax, hidróxido de potasio, bicarbonato de sodio, hidróxido de sodio, aminas orgánicas polares como trietanolamina y lauril o estearil aminas los cuales son usados como agentes gelificantes en sistemas no polares.

Durante la preparación del gel la solución debe ser agitada suavemente para evitar la inclusión de burbujas de aire. Los geles acuosos de carbomer neutralizados son más viscosos a pH 6 a 11, la viscosidad se ve reducida considerablemente a menos de pH 3 y a más de pH 12, la viscosidad también se ve

reducida en presencia de electrolitos fuertes, el gel pierde rápidamente su viscosidad cuando es expuesto a la luz, pero esto es solucionado con la adición de algún antioxidante.

Estabilidad

Los carbómeros son estables, es un material higroscópico puede ser calentado a temperaturas menores a 104°C por dos horas sin que se afecte su eficiencia espesante, sin embargo la exposición a excesivas temperaturas pueden resultar en decoloración y reducir su estabilidad, la completa descomposición ocurre a 260°C por 30 minutos.

Los polvos secos de carbomer no promueven el crecimiento de hongos y levaduras, sin embargo los microorganismos crecen bien en dispersiones acuosas de carbomer sin preservantes, algunos preservantes pueden añadirse como clorocresol 0,1% p/v, metilparabeno 0,1% p/v o timerosal 0,1% p/v, también se añaden otros conservadores como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, y benzoato de sodio; concentraciones altas de conservadores en general pueden causar la disminución de la viscosidad, geles acuosos pueden esterilizarse por autoclavado.

A temperatura ambiente, las dispersiones de carbomer mantienen su viscosidad durante el almacenado por prolongados periodos, de la misma forma la viscosidad se mantiene o se ve ligeramente disminuida a elevadas temperaturas ambientales, si hay un antioxidante en la formulación y si la formulación está protegida de la luz. La exposición a la luz causa oxidación la cual se ve reflejada en la disminución de la viscosidad, sin embargo la sensibilidad a la luz puede ser mejorada con la adición de 0,05 a 0,1% de algún protector UV soluble en agua como 2-benzofenona o 4-benzofenona en combinación de 0,05 a 0,1% de EDTA. La estabilidad a los rayos UV en los geles puede ser mejorada en los geles con el uso de trietanolamina como base neutralizante.

Incompatibilidades

Los carbómeros decoloran el resorcinol y son incompatibles con fenol, polímeros catiónicos, ácidos fuertes y por altas concentraciones de electrolitos, trazas de hierro y otros metales de transición pueden degradar catalíticamente dispersiones

de carbomer. Calor intenso puede ser generado si el carbomer está en contacto con materiales fuertemente básicos como amoníaco, hidróxido de potasio, hidróxido de sodio o aminas fuertemente básicas.

Método de manufactura

Carbómeros son polímeros sintéticos de alto peso molecular del ácido acrílico copolimerizados con aproximadamente 0,75-2% w/w de alilsucrosa, el solvente usado para la polimerización es normalmente benceno, sin embargo algunos nuevos grados de carbomer comercializados son manufacturados usando acetato de etilo o una mezcla de ciclohexano/ acetato de etilo como solvente.

Seguridad

Los carbómeros son usados ampliamente en formulaciones no parenterales, particularmente líquidos tópicos y preparaciones semisólidas, algunos carbómeros pueden ser utilizados en formulaciones pero de ciertos tipos y con bajo contenido de benceno; no hay evidencia de hipersensibilidad o de reacciones alérgicas para formulaciones tópicas en humanos (DL₅₀ oral en ratas de carbomer 910 es de 10,25 g/kg).

Categoría regulatoria

Incluidos en la lista de ingredientes inactivos por la FDA (suspensiones orales y tabletas, preparaciones rectales, oftálmicas y tópicas) autorizada como excipiente no parenteral en el Reino Unido

METILPARABENO

Nombre genérico

- BP: Metil hidroxibenzoato
- JP: Metil parahidroxibenzoato
- PhEur: Methilis parahidroxibenzoas

– USPNF: Methilparabeno

Sinónimos

E218; ácido 4-hidroxibenzoico metil ester; metil p-hidroxibenzoato; *Nipagin M*; *Uniphen P-23*.

Nombre químico y número de registro CAS:

Metil-4-hidroxibenzoato [99-76-3]

Fórmula empírica y peso molecular

C₈H₈O₃ 152.15

Categoría funcional

Preservante antimicrobiano.

Aplicaciones en tecnología farmacéutica.

Metilparabeno es ampliamente usado como un preservante antimicrobiano en cosméticos, productos alimenticios, y formulaciones farmacéuticas; ya sea solo o en combinación con otros parabenos o con otros agentes antimicrobianos. En cosméticos, el metilparabeno es el mayor agente antimicrobiano utilizado. Los parabenos son efectivos sobre un amplio margen de pH y tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana, aunque es más efectivo contra levaduras y hongos.

La eficacia preservante es mejorada por la adición de propilenglicol (2--5%), o usando parabenos en combinación con otros agentes antimicrobianos.

A causa de la solubilidad pobre de los parabenos, sus sales (en particular la sal sódica) son más seguidas usadas en formulaciones. El metilparabeno (0.18 %) conjuntamente con propilparabeno (0.02 %) ha servido para la preservación de

diversas formulaciones farmacéuticas parenterales. El rango de pH donde es estable el metilparabeno es de 4 a 8.

Descripción

En forma de cristales incoloros o un polvo cristalino blanco. Es inodoro o casi inodoro y tiene un sabor leve a quemado.

Propiedades físicas

- *Punto de fusión:* 125-128°C.
- *Constante de disociación:* $pK_a = 8,4$ a 22°C.
- *Solubilidad:* Soluble en agua (1 en 400 a 25°C), propilenglicol (1 en 5 a 25°C); etanol (1 en 2 a 25°C); glicerina (1 en 60 a 25°C)
- *Gravedad específica:* 1,352 g/cm³

Incompatibilidades

Similares al propilparabeno, presenta incompatibilidad con polisorbato 80, la cual se ve disminuida con la adición de 10% de propilenglicol para evitar micelización. Se ha reportado incompatibilidades con bentonita, trisilicato de magnesio, talco, goma tragacanto, alginato de sodio, aceites esenciales, sorbitol y atropina, se recomienda el uso de polietileno de alta densidad en los envases que sirvan para contener formulaciones que contengan metilparabeno, el rango de pH donde es estable metilparabeno es de 4-8.

Método de manufactura

Metilparabeno es preparado por esterificación del ácido p-hidroxibenzoico con metanol.

Seguridad

Prácticamente no es tóxico, no es irritante de la piel (DL₅₀ ratón 8g/kg).

PROPILPARABENO

Nombre genérico

- BP: Propil hidroxibenzoato
- JP: Propil parahidroxibenzoato
- PhEur: Propilis parahidroxibenzoas
- USPNF: Propilparabeno

Sinónimos

E216; Ácido 4-hidroxibenzoico propil éster; Nipasol M; propagin; propil p-hidroxibenzoato; *Propil parasept*; *Solbrol P*; *Uniphen P-23*.

Nombre químico y número de registro CAS:

Propil 4-hidroxibenzoato [94-13-3]

Fórmula empírica y peso molecular

C₁₀H₁₂O₃ 180.20

Categoría funcional

Preservante antimicrobiano.

Aplicaciones en tecnología farmacéutica.

Propilparabeno al igual que metilparabeno es ampliamente usado como un preservante antimicrobiano en cosméticos, productos alimenticios, y

formulaciones farmacéuticas; ya sea solo o en combinación con otros parabenos o con otros agentes antimicrobianos. En cosméticos, el metilparabeno es el mayor agente antimicrobiano utilizado. Los parabenos son efectivos sobre un amplio margen de pH y tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana, aunque es más efectivo contra levaduras y hongos.

A causa de la solubilidad pobre de los parabenos, sus sales (en particular la sal sódica) son más seguidas usadas en formulaciones. El metilparabeno (0.18 %) conjuntamente con propilparabeno (0.02 %) ha servido para la preservación de diversas formulaciones farmacéuticas parenterales.

Descripción

En forma de polvo blanco, cristalino, inodoro e insípido.

Propiedades físicas

- *Punto de fusión:* 295°C.
- *Constante de disociación:* $pK_a = 8,4$ a 22°C.
- *Solubilidad:* Soluble en agua (1 en 2500 a 20°C), propilenglicol (1 en 3,9 a 20°C); etanol 95° (1 en 1,1 a 20°C); glicerina (1 en 250 a 20°C)
- *Gravedad específica:* 1,288 g/cm³

Incompatibilidades

La actividad antimicrobiana de propilparabeno se ve considerablemente reducida en presencia de surfactantes no iónicos como resultado de la miscelización, la absorción de propilparabeno por los plásticos ha sido reportada, la cual es dependiente del tipo de plástico del envase y de los vehículos. El silicato de magnesio y aluminio, trisilicato de magnesio, óxido de hierro amarillo y azul ultramarino también han sido reportados como absorbentes de propilparabeno reduciendo su eficacia. Propilparabeno es degradado en presencia de hierro y es sujeto a hidrólisis por bases débiles y ácidos fuertes. Es estable a pH 3-6 y puede ser

autoclavado, las soluciones a este pH son estables hasta por 4 años a temperatura ambiente, a un pH de 8 es rápidamente hidrolizado en aproximadamente 60 días a temperatura ambiente.

Método de manufactura

Propilparabeno es preparado por esterificación del ácido p-hidroxibenzoico con n-propanol.

Seguridad

Material no tóxico, no es irritante de la piel (DL₅₀ ratón 9g/kg).

PROPILENGLICOL

Nombre genérico

- BP: Propilenglicol
- JP: Propilenglicol
- PhEur: Propylenglycolum
- USP: Propilenglicol

Sinónimos

1,2-dihidroxiopropano, 2-hidroxiopropanol, metilenglicol, propanol 1,2-diol, metiletilenglicol.

Nombre químico y número de registro CAS:

1,2-Propanodiol [57-55-6]

Fórmula empírica y peso molecular

C₃H₈O₂ 76.09

Categoría funcional

Preservante antimicrobiano, desinfectante, humectante, plastificante, solvente, estabilizante de vitaminas, codisolvente miscible en agua.

Aplicaciones en tecnología farmacéutica.

Propilenglicol es comúnmente usado como solvente, líquido extractante y preservante en una variedad de formulaciones parenterales y no parenterales. En general es mejor solvente que la glicerina y disuelve una gran variedad de materiales como corticosteroides, fenoles, sulfas, barbitúricos, vitamina A y D, la mayoría de los alcaloides y muchos anestésicos locales. Es un antiséptico semejante al etanol, también es usado en cosméticos y en industria alimentaria como transporte de emulsificantes y como vehículo de esencias teniendo como ventaja sobre el etanol que su falta de volatilidad produce un sabor más uniforme.

Descripción

Líquido claro viscoso, inodoro.

Propiedades físicas

- *Punto de ebullición:* 188°C.
- *Punto de fusión:* -59°C
- *Solubilidad:* miscible con agua, cloroformo, etanol y glicerina. No es soluble en aceite mineral u otros aceites, pero puede disolver aceites esenciales.
- *Densidad:* 1,038 g/cm³ a 20°C

Incompatibilidades

Propilenglicol es incompatible con agentes oxidantes como permanganato de potasio.

Método de manufactura

El propileno es convertido a clorhidrina por agua clorada e hidrolizado a 1,2-óxido de propileno. Con más hidrólisis el 1,2-óxido de propileno es convertido a propilenglicol.

Seguridad

Este ingrediente se utiliza en alimentos y en formulaciones farmacéuticas, es considerado como material no tóxico (DL₅₀ por vía oral en ratas 21-33g/kg).

TRIETANOLAMINA

Nombre genérico

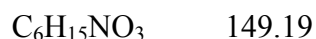
- BP: Triethanolamine
- PhEur: Trolaminum
- USPNF: Trolamine

Sinónimos

TEA; *Tealan*; trietilolamina; trihidroxitrietilamina; tris (hidroxietil) amina.

Nombre químico y número de registro CAS:

2,2',2''-Nitrilotrietanol [102-71-6]

Fórmula empírica y peso molecular**Categoría funcional**

Agente alcalinizante y emulsificante.

Aplicaciones en tecnología farmacéutica.

Ampliamente usado en formulaciones farmacéuticas tópicas para la formación de emulsiones, cuando es mezclado en proporciones equimoleculares con ácidos grasos como esteárico u oleico, trietanolamina forma jabones aniónicos los cuales son usados como agentes emulsificantes para producir partículas finas y estables en emulsiones aceite/agua con un pH alrededor de 8. Los jabones de trietanolamina producen emulsiones más estables que las producidas con un jabón alcalino, sin embargo, ambos se descomponen en presencia de ácidos y altas concentraciones de sales ionizadas.

Las concentraciones que se usan típicamente para la emulsificación de aceites fijos es 2-4% y 2 a 5 veces la cantidad de ácido graso, para aceites minerales la cantidad de trietanolamina debe ser incrementada en un 5% con el apropiado incremento del ácido graso usado. Las preparaciones que contienen jabones de trietanolamina tienden a obscurecerse cuando están almacenadas. Sin embargo, la coloración puede reducirse cuidando de no ser expuesto el producto a la luz y evitando el contacto del mismo con metales e iones metálicos. También es utilizada en la formación de sales para inyecciones, en preparaciones analgésicas tópicas. Otros usos generales son como agente tampón, solvente, plastificante de polímeros y humectante.

Descripción

Líquido ligeramente amarillento, viscoso, olor amoniacal poco pronunciado.

Propiedades físicas

- *Acidez/alcalinidad:* pH=10.5
- *Punto de ebullición:* 335°C.
- *Punto de fusión:* 20-21°C
- *Solubilidad:* miscible con agua, acetona, metanol y tetracloruro de carbono. Soluble en benceno (1:24), éter etílico (1:63).

Incompatibilidades

Trietanolamina es una amina terciaria la cual contiene grupos hidróxilo así que es capaz de sufrir reacciones típicas de las aminas terciarias y alcoholes. El grupo amino usualmente exhibe una gran actividad cada vez que es posible una reacción con el grupo amino y hidroxilo. Trietanolamina puede reaccionar con el cobre formando sales complejas, decoloración y precipitación puede suceder en presencia de sales de metales pesados, también puede reaccionar con reactivos como cloruro de tionilo por el reemplazo de los grupos hidroxilo con halógenos, los productos de esta reacción son muy tóxicos, pueden parecerse a mostazas nitrogenadas.

Método de manufactura

Trietanolamina se prepara comercialmente por la amonólisis de óxido de etileno, la reacción produce monoetanolamina, dietanolamina y trietanolamina, los que son separados para obtener los productos puros.

Seguridad

Considerado como material no tóxico, puede causar hipersensibilidad o ser irritante a la piel (DL_{50} piel de conejo $>20g/kg$).

TWEEN

Nombres genéricos

- BP: Polysorbate 20, Polysorbate 40, Polysorbate 60, and Polysorbate 80
- JP: Polysorbate 80
- PhEur: Polysorbatum 20, Polysorbatum 40, Polysorbatum 60, and Polysorbatum 80
- USPNF: Polysorbate 20, Polysorbate 40, Polysorbate 60, and Polysorbate 80

Sinónimos

Arnotan PML 20; Capmul POE-L; Campul POE-L Low PV; Crillet 1; Drewmulse; E432; Durfax 20; E432; Eumulgin SML; Glycosperse L-20; Hodag PSML-20; Lamesorb SML-20; Liposorb L-20; Liposorb L-20K; Montanox 20; Nissan Nonion LT-221; Norfox Sorbo T-20; POE-SML; Ritabate 20; Sorbax PML-20; sorbitan monododecanoate; Sorgen TW-20; T-Maz 20; T-Maz 20K; poly(oxy-1,2-ethanediyl) derivatives; polyoxyethylene 20 laurate; Protasorb L-20; Tego SML 20; Tween 20.

Nombre químico y número de registro CAS:

Polioxiétilen 20 sorbitan monolaurato [9005-64-5]

Fórmula empírica y peso molecular

$C_{58}H_{114}O_{26}$ 1128

Categoría funcional

Agente emulsificante, surfactante no iónico, agente solubilizante, humectante, agente emulsificante/suspensor.

Aplicaciones en tecnología farmacéutica.

Los ésteres de ácidos grasos con polioxietilen sorbitán (polisorbatos) son una serie de ácidos grasos parcialmente esterificados con sorbitol y sus anhídros copolimerizados con aproximadamente 20, 5 o 4 moles de óxido de etileno por cada mol de sorbitol y sus anhídros.

El producto resultante es por consiguiente una mezcla de moléculas de diferentes tamaños en vez de un solo compuesto uniforme. Los polisorbatos que contienen 20 unidades de oxietileno son agentes tensoactivos poco iónicos hidrófilos que son usados ampliamente como agentes emulsificantes en la preparación de emulsiones farmacéuticas estables aceite en agua. También pueden ser usados como agentes solubilizantes para una serie de sustancias incluyendo aceites esenciales y las vitaminas liposolubles, y como agentes humectantes en la formulación de suspensiones orales y parenterales. Se ha encontrado que son útiles mejorando la biodisponibilidad oral de moléculas de fármacos que son sustratos de p-paraglicoproeínas. Los polisorbatos son también ampliamente usados en cosméticos y productos alimenticios.

Descripción

Líquido aceitoso amarillo.

Propiedades físicas

- *Porcentaje de acidez:* 2%
- *Solubilidad:* miscible con agua y etanol, insoluble en aceite mineral y aceites vegetales.

Incompatibilidades

La decoloración y/o la precipitación cursa con sustancias diversas, especialmente fenoles, taninos, alquitranes, y materiales tarlike. La actividad antimicrobiana de preservantes tipo parabenos disminuye en presencia de polisorbatos.

Método de manufactura

Los polisorbatos se preparan a partir de sorbitol en un proceso de tres pasos. El agua es inicialmente removido del sorbitol para formar un sorbitan (un anhídrido cíclico de sorbitol). El sorbitan es entonces parcialmente esterificado con un ácido graso, como oleico o ácido esteárico, para producir un éster del hexitan. Finalmente, el óxido de etileno es químicamente adicionado en presencia de un catalizador para producir el polisorbato.

Seguridad

El Tween 20, es moderadamente tóxico por vía oral, IP y EV. Es irritante en piel humana.

- LD50 (hamster, oral): 18 g/kg
- LD50 (ratón, IV): 1.42 g/kg
- LD50 (rata, oral): 37 g/kg